Docteur V. FERHAN

389 7 15

TRAVAUX RÉCENTS SUR LE BACILLE TUBERCULEUX

REVUE GÉNÉRALE

LIBRAIRIE M. LAC

Travaux récents sur le Bacille tuberculeux

Docteur V. FERHAN
de la Faculté de Médecine de Paris

Travaux récents sur le Bacille tuberculeux

REVUE GÉNÉRALE

PARIS
LIBRAIRIE M. LAC
ÉDITEUR
26, Rue Monsieur-le-Prince, 26, PARIS (VIe Arr.)
1929

HISTORIQUE

Dans son travail historique et complet sur la tuberculose quelques années après la découverte de Villemain, Valdburg signale un ouvrage de H. Klenck, publié en 1843 sur l'anatomie physiologique, la microbiologie et la médecine scientifique. Il y développe la contagiosité produite par des cellules demi-individuelles, des cellules pathologiques, parmi lesquelles l'auteur range les cellules carcinomateuses, tuberculeuses, mélanotiques, celles des verrues, des moluscums, etc...

Ces cellules auraient la propriété de généraliser l'affection à partir du point primitif.

Klenck consacre à la tuberculose les lignes suivantes : « les cellules tuberculeuses se comportent comme des cellules cancéreuses, elles sont susceptibles d'être transplantées ».

C'est le 5 décembre 1865 que Villemain déclara à l'Académie de Médecine le résultat de ses recherches expérimentales : « la tuberculose est l'effet d'un agent causal spécifique d'un virus, cet agent morbide doit se trouver comme ses congénères dans les produits morbides qu'il a

déterminés par son action directe sur les éléments normaux de tissus affectés ».

Cet illustre maître ouvrait le chemin à une série d'expériences, et établissait non sans que son affirmation ne soit contestée, que la tuberculose était due à un « virus » qui était inoculable expérimentalement.

Cette déclaration de Villemain provoqua une émotion vive dans le monde médical.

L'Académie de Médecine décida de désigner une commission de contrôle, composée de Louis Grisolle, H. Boulz, Colin, chargée d'examiner les travaux de Villemain. Colin fut nommé rapporteur et dans la séance du 16 juillet 1867, il lut à l'Académie le résumé des travaux de la Commission dont la partie expérimentale leur appartenait tout entière, mais le microbe, agent de la maladie avait échappé aux recherches microscopiques, et c'est plus tard en 1882 seulement que Koch communiqua à la Société Biologique de Berlin le résultat de ses recherches sur l'étiologie-bactériologique de la tuberculose. Il décrivait le microbe, le bacille qui porte son nom, et indiquait où et comment on pouvait le voir, les raisons pour lesquelles il avait jusqu'alors échappé aux investigations.

Koch a mis en évidence, grâce à une coloration particulière, alcalinisée de bleu de Méthylène dans les produits spécifiques la présence du bacille tuberculeux. Cette coloration particulière ne présente actuellement qu'un intérêt historique. Voici la formule du colorant employé.

Solution alcool. de bleu de Méthyl 1 cc., eau distillée 200 cc., solution de K. à 1/100, 0,20 cc.

On laisse séjourner pendant 24 heures dans ce liquide les lamelles portant du frottis d'organes tuberculeux.

Les bacilles apparaissaient colorés *en bleu*. Ce procédé fut heureusement modifié par Ehrlich, ultérieurement.

BACILLES TUBERCULEUX. — Morphologiquement, à l'état frais, les bacilles tuberculeux se présentent sous forme de bâtonnets immobiles ; ils sont mobiles dans les cultures homogènes (Arloing) leur longueur 1 γ $\frac{1}{2}$ à 5 γ et 1 γ d'épaisseur.

Ils sont plus courts dans la culture jeune.

Il y a des formes naines. Ils sont groupés deux par deux et parallèlement ; dans certains cas, en amas.

Ils possèdent quelquefois des granulations à l'intérieur.

La présence de ces granulations dans le corps des bacilles tuberculeux est connue depuis qu'est connu le bacille de la tuberculose ; Koch et Ehrlich les ont vues à la suite de leurs recherches. Les travaux de Much eurent comme point de départ une hypothèse de Von Behring. Ce savant pensait à l'existence d'une autre forme bacillaire en dehors de la forme connue et qui échappait à notre moyen d'investigation pour la mettre en évidence dans certains produits dont l'inoculation prouvait nettement la nature tuberculeuse.

Much appliquant à ses préparations une méthode de Gram modifiée, y vit des *granulations arrondies inégales de taille*, inégales dans l'intensité de leur affinité tinctoriale : teinte en bleu violet, se disposant soit en amas, soit en courtes chaînettes, rectilignes ou non, soit isolément

ici et là « granula » et à côté d'elles, quelques bâtonnets, la plupart granuleux, et quelques-uns homogènes; Much considère ces aspects comme types nouveaux du virus tuberculeux ; ce sont tout simplement des *granulations libres, des bâtonnets granuleux, et des bâtonnets homogènes.* Au même moment Michaélidis, Caan, Hatano, Berka, Gasis arrivaient à des conclusions semblables et essayèrent bientôt de les perfectionner.

Les granulas pouvaient prendre la forme bacillaire classique. Dans les vieilles cultures, le bacille de Koch disparaîtrait et se transformerait en granula.

Stefan Pekanovich décrivit l'existence de granulas en chaînettes, en amas ou isolés, exclusivement colorables par la méthode de Much, sur des coupes de poumons et de rate tuberculeux de cobayes à côté de nombreux bacilles colorés par Ziehl.

Stéphani Rosenblat prétendit trouver des granulas dans l'expectoration des phtisiques et soutint qu'ils existaient chez tous les bacillaires.

Il y aurait donc 2 formes de virus tuberculeux avec un certain balancement entre eux : la forme colorable et la forme non colorable par la méthode de Ziehl ; lorsque les formes acido-résistantes augmentent de nombre, les granules diminueraient et inversement.

Quand aux bâtonnets granuleux, ils possèdent des granules à l'intérieur et on peut les mettre en évidence par la méthode de coloration de Fontès.

C'est une coloration à chaud par la fuschine-phéniquée

de deux minutes qui après lavage à l'alcool se colore par le Kristal violet phéniqué 2 minutes à chaud.

Ces granulations, dont le nombre varie de 2 à 6, Koch les considérait comme des spores en les comparant au bacille sporulé de la bactéridie charbonneuse. D'après Straus les granulations se trouvent en plus grande quantité dans de très vieilles cultures ; on les voit enfin, dit Strauss, dans de vieux foyers caséeux où l'on ne trouve pas de bacilles.

En dernier lieu on voit les granulations à l'état isolé et non renfermées à l'intérieur du bacille.

Les bacilles tuberculeux, en dehors de l'aspect bâtonneux peuvent présenter des renflements terminaux ainsi que des ramifications latérales, souvent dans les vieilles cultures, c'est le « Sclérotrix de Méchinikoff ».

La coloration : Après Koch, dont le procédé de coloration a gardé une valeur historique Ehrlich publia un peu plus tard un procédé de coloration beaucoup plus commode ; c'est une solution alcoolique concentrée de fuschine ou de violet de Méthyle étendue d'eau saturée d'aniline.

Eau d'aniline	100 cc.
Solution alcool. saturée de fuschine ou de violet de méthyle	11 cc.

Elle ne se conserve pas et doit être préparée fraîchement.

Voyant que le bacille de Koch se colorait par le bleu de Méthylène alcoolisé, additionné d'aniline et qu'il ne se décolorait pas par les acides, Ehrlich a supposé avec rai-

son qu'il possédait une enveloppe avec des propriétés spéciales :

1° Elle ne se laisse traverser par les matières colorantes que sous l'influence d'un alcalin.

2° Elle serait imperméable aux acides.

Ziehl sur cette hypothèse essaya d'aciduler le liquide d'Ehrlich avec de l'acide acétique et remplaça l'aniline par un autre corps de la série aromatique, par le phénol « acide phénique ».

L'addition aux couleurs d'aniline basiques d'un alcali n'est donc pas indispensable pour la coloration du bacille tuberculeux. Le liquide de Ziehl qui a l'avantage de se conserver longtemps est aujourd'hui le plus usité.

Il peut être employé à chaud ou à froid. Le bacille de la tuberculose coloré par la méthode de Ziehl a des propriétés alcoolo-acido-résistantes. On pensait que cette propriété était liée à sa constitution chimique qui est assez différente de celle des autres microbes, il renfermait en effet des graisses neutres (palmitine, cire) des acides gras, des corps voisins de la lécitine, de la cholestérine, une matière colorante jaune des corps albuminoïdes et une trame cellulosique pour les uns, chitineuse pour les autres.

Bezançon et Philibert pensent, d'autre part, que les réactions colorantes ne sont pas directement liées à la constitution chimique.

Le bacille de Koch, comme nous savons, ne pousse pas dans les milieux usuels ; il lui faut un milieu spécial à 38°.

On n'emploie plus guère non plus le sérum de bœuf coagulé de Kock.

La pomme de terre glycérinée à 4-6/1.000 est un milieu favorable à son développement ; les colonies apparaissent vers le 15e jour, elles sont saillantes, mamelonnées.

Le milieu Bezançon et Griffon : (sang de lapin gelosé et glycériné à 6/1000) donne des cultures plus précoces et plus exubérantes.

Pour les milieux liquides, on emploie indifféremment le bouillon de bœuf et de veau, additionné de 6/1000 de glycérine et de 1/1000 de sucre alcalinisé et salé.

Les bacilles se développent sous forme d'un voile mince et transparent qui s'épaissit et se chagrine plus tard.

La découverte de Fontès

En 1910, Fontès eut l'idée de filtrer les produits pathologiques tuberculeux pour y déceler les corpuscules de Much.

Il est bien vrai que les expérimentateurs avaient été frappés un moment donné par le fait que dans les produits caséeux d'origine tuberculeuse, tels que le pus d'abcès froids, le caséum d'une caverne, les lésions caséeuses de bovidés, il était impossible de déceler le bacille tuberculeux typique, mais des granulations, des petits corpuscules non acido-résistants se montraient par ci, par-là, et ils faisaient l'objet des travaux et des hypothèses de plusieurs bactériologistes connus : Vakaniski, Much, Fontès et Michaélidis. Much émit l'hypothèse suivante : « Il existe dans les lésions tuberculeuses des bacilles de Koch qui ne sont plus décelables par la méthode de Ziehl, mais qui se colorent par la méthode de Gram ».

Straus avait déjà signalé l'existence de corpuscules chromophyles. Fontès filtra du pus tuberculeux à travers des bougies Berkfeld, pour se rendre compte si ces corpuscules hypothétiques pourraient traverser les bougies et pour connaître la virulence du filtrat.

Il prit du pus caséeux, le dilua dans de l'eau physiologique, le filtra à travers une bougie Berkfeld, et inocula le filtrat aux cobayes.

Au bout de 15 jours, sans présenter le chancre d'inoculation, les ganglions s'hypertrophièrent et durcirent et les animaux, après un temps très long, maigrirent et moururent.

A l'autopsie, on ne décéla aucun bacille, ni dans les ganglions, ni dans la rate et il fut impossible de conclure à la tuberculose.

Fontès broya alors la rate d'un premier animal et l'inocula à un deuxième cobaye ; cinq mois plus tard, cet animal, sans présenter de tuberculose ganglionnaire ni de tuberculose pulmonaire, présenta dans les cellules des ganglions du hil quelques bâtonnets ressemblant au bacille de Koch.

Ces expériences, au moment où elles furent publiées, ne retinrent pas l'attention, ou n'attirèrent à leur auteur que des critiques.

Deux ans plus tard, en 1912, Philibert reprit les travaux de Fontès, il fit porter ses essais sur dix échantillons tuberculeux de lésions diverses, tels que coxalgie, tumeur blanche, ganglion, etc...

Il les filtra avec beaucoup de difficulté, faisant, dans

un cas, se prolonger la filtration pendant plusieurs jours, et la filtration était toujours lente et se faisait mal.

Les dix échantillons de pus tuberculeux des différentes lésions avant filtration étaient nettement virulents quand on les inoculait aux cobayes ; ceux-ci mouraient de tuberculose généralisée. L'inoculation du filtrat n'amena, en aucun cas, de tuberculose.

Une seule fois, un cobaye est mort tuberculeux, mais Philibert pense que la bougie dont il s'était servi était peut-être perméable.

C'est en 1922 que Vaudremer, à la suite d'une série de recherches indépendantes, a abouti aux mêmes conclusions que Fontès, et déclara que les bâtonnets aperçus par Fontès étaient bien le bacille tuberculeux typique. Le bacille de Koch possédait une forme filtrante ; celle-ci existait non seulement dans les produits pathologiques connus, mais aussi dans les cultures.

Il s'était demandé si dans certaines conditions déterminées, le bacille tuberculeux ne pouvait pas perdre son acido-résistance, caractère considéré jusqu'alors comme fondamental.

Il y est parvenu en formulant son hypothèse : si le bacille tuberculeux pouvait perdre sa propriété d'être acido-résistant sans être touché dans sa forme, il pouvait peut-être se développer dans des milieux différents, dans des milieux autres que ceux des milieux usuels et aussi sous un autre aspect et avec des propriétés nouvelles.

En somme, il a voulu savoir si le bacille tuberculeux

pourrait se développer en dehors de la vie parasitaire et dans quelles conditions il le ferait.

Plus tard, il essaya s'il n'était pas possible de filtrer les bacilles tuberculeux sans les ensemencer dans des milieux spéciaux, c'est-à-dire de partir des cultures sur pommes de terre avec eau peptonée glycérinée.

Il dit avoir ainsi obtenu des cultures repiquables en série, formées de filaments très fins.

LA TECHNIQUE D'ÉTUDE

La Filtration

Il y a fort longtemps que l'on connaît les bougies filtrantes. En 1857, Nadaul de Buffon inventa la forme tubulaire, la forme « bougie » employée à l'heure actuelle et utilisa une masse filtrante fortement comprimée. L'eau traversait ces tubes allant du dehors au dedans. Zahn, un peu plus tard, emploie des vases en poterie non émaillée. Pasteur et Joubert emploient du plâtre : celui-ci a l'inconvénient d'être soluble dans l'eau, Miquel et Cautier conseillent la porcelaine. Mais c'est Chamberlan qui fit faire un très grand progrès en apportant ses bougies en biscuit.

A l'heure actuelle, on se sert comme matière filtrante de terre d'infusoire, de kaolin, d'argile, de biscuit. La forme des filtres n'a guère varié: il s'agit toujours d'un tube creux de longueur et d'épaisseur variables. On peut dire que chaque auteur possède un montage particulier. Lorsqu'on a peu de liquide à filtrer, on peut se servir du système de M. Martin ou de celui que Hauduroy lui-même décrit.

M. Martin utilise des petites bougies de porcelaine, lon-

gues d'une dizaine de centimètres. On adapte à leur extrémité un entonnoir dont la tubulure traverse un gros bouchon de caoutchouc. La bougie est introduite dans un tube un peu large et un peu long. Le tout (bougie et tube qui l'entoure) est introduit dans une large éprouvette à tubulure latérale. Celle-ci se trouve hermétiquement fermée par le gros bouchon de caoutchouc que traverse la tubulure de l'entonnoir. Pour filtrer, on introduit le liquide dans l'entonnoir, on relie la tubulure latérale de l'éprouvette à une trompe à vide. Le liquide s'écoule dans le petit tube qui entoure la bougie.

Le système dont Hauduroy se sert personnellement et qui lui a toujours donné les meilleurs résultats, est le suivant : on prend des bougies Chamberland, de taille ordinaire ; on entoure la partie vernissée de coton et on entre à force dans un tube large de 4 cm. environ et long de 25 cm., possédant une tubulure latérale haut placée. Il reste entre l'extrémité inférieure de la bougie et le fond du tube, un espace de 6 à 7 centimètres de hauteur et pouvant contenir 80 cm^3 de liquide. Pour filtrer, on introduit le liquide dans l'intérieur de la bougie, on relie la tubulure latérale à une trompe à vide. Le filtrat vient s'accumuler dans le fond du tube. Pour transvaser, on retire la bougie, on flambe l'orifice et on aspire avec une pipette. Ce système a plusieurs avantages. Il est peu coûteux, son montage est des plus simples et la fermeture avec du coton a le grand mérite d'empêcher la pression sous laquelle on filtre, de s'élever au-dessus de 10 à 15 cm. de mercure.

Pour filtrer de grandes quantités de liquide , on utilise soit l'appareil de Kitasato, soit les appareils à boute, soit tout autre système que suggère à chacun son ingéniosité. Mais tous les systèmes utilisés doivent satisfaire un certain nombre de conditions qui sont réglées par la théorie même de la filtration.

La stérilisation des bougies doit se faire de la façon suivante : après usage, on les met à bouillir pendant une demi-heure. On les sèche ensuite à l'étuve à 37° ou à 50° (24 heures par exemple sur la plaque inférieure de cuivre d'une étuve à 37°), puis on les régénère. Pour ce faire, on les met dans un four à moufle et on les laisse arriver au blanc. A ce moment, toutes les matières organiques qu'elles pouvaient contenir ont disparu. On les éprouve ensuite pour savoir si elles ne sont pas percées ou fêlées : il suffit d'introduire sous pression, à l'aide d'une poire, de l'air à l'intérieur de la bougie trempée dans l'eau. Si une bulle d'air s'échappe, la bougie n'est plus utilisable. Si la bougie n'est pas abîmée, il suffit alors de la remonter sur son appareil et de stériliser le tout à l'autoclave.

La théorie de la filtration est à vrai dire assez mal connue. Ce sont surtout les études physico-chimiques sur les colloïdes qui nous ont apporté les quelques notions que nous avons.

Comment doit-on considérer une bougie de porcelaine ? S'agit-il d'un simple tamis, d'un crible à mailles étroites, qui va laisser passer les particules très fines et retenir les autres ? Non pas, et des phénomènes multiples intervien-

nent et qui, pour la plupart, sont mal connus. Les parois des bougies ont une certaine épaisseur et on comprend facilement que les canaux par lesquels passent les germes n'ont pas la rectitude d'un tunnel, mais sont, au contraire, sinueux au possible et d'une extraordinaire complication. On a pu approximativement mesurer le diamètre de ces canaux : pour une bougie Chamberland à grains fins ils ont environ un diamètre de 0 m/m 002. Admettons que ce diamètre soit réduit au tiers ou au quart comme diamètre utile. On aboutit à des dimensions microscopiques, et théoriquement rien ne doit empêcher les sels colloïdaux ou les germes microbiens de passer et de se retrouver dans le filtrat. L'expérience, cependant, montre qu'il n'en est rien.

Un autre phénomène, en effet, intervient auquel on a donné le nom d'absorption.

Ce terme a été créé pour désigner des phénomènes qui, autrefois, étaient catalogués sous le nom d'absorption. Duclaux définit l'absorption de la façon suivante : une substance gazeuse ou dissoute est absorbée quand elle va se fixer sur une autre substance solide, sans qu'il y ait ni réaction chimique ni dissolution proprement dite. L'acide sulfurique, par exemple, n'absorbe pas la vapeur d'eau, car il y a réaction chimique. Par contre, le noir animal absorbe certaines matières colorantes; il y a pas ici de phénomènes chimiques, le produit absorbé peut être bien souvent récupéré intact et il s'est accompli simplement un véritable collage. Les phénomènes d'absorption sont à la base même de toute une industrie, celle de la

teinturerie. Aussi les physiciens et les chimistes en ont-ils étudié soigneusement les lois.

Les formules établies n'ont malheureusement pas eu jusqu'ici d'applications en bactériologie. Le fait seul nous est connu et nous devons le concevoir de la manière suivante : les particules en suspension dans les liquides à filtrer, les microbes, sont d'un diamètre plus petit que celui des pores qu'ils ont à traverser. Mais dès que, sous l'influence de la pression, il s'engagent dans les canicules du filtre, ils sont happés, attirés, collés par la matière du filtre, ils sont absorbés. Ce phénomène physique nous fait comprendre la contradiction que nous signalions tout à l'heure entre la théorie et les faits.

Mais cette absorption n'est pas toujours si intense que les germes qui se sont collés sur la paroi du filtre ne puissens se détacher. L'expérience nous prouve, en effet, que si l'on continue longtemps la filtration, si on élève la pression, le courant de liquide finit par entraîner les microbes arrêtés dans la paroi du filtre.

La sanction pratique de ces faits sera qu'il ne faut effectuer une filtration que pendant un temps court et sous une pression basse.

On a constaté d'autre part que, si l'on filtrait pendant longtemps, certains germes pouvaient se cultiver dans la paroi des bougies et se retrouver dans le filtrat. Enfin, il est de notion courante que les microbes mobiles traversent plus facilement les filtres que les microbes immobiles. Nous ignorons d'ailleurs la raison de ce phénomène.

En dehors de temps et de la pression, d'autres conditions viennent influencer la filtration. Ce sont la viscocité ou plus exactement la teneur en albumine du liquide à filtrer, l'alcalinité ou l'acidité du milieu, la grosseur des particules.

La teneur en albumine du liquide à filtrer joue un rôle important. De l'eau peptonée ordinaire se filtrera avec une très grande facilité ; du liquide d'ascite passera mal.

Quand on veut opérer avec du sang, des crachats, du pus, on éprouve les plus grandes difficultés et on aboutit rapidement au colmatage de la bougie. Une sorte de réseau albumineux, une paroi imperméable vient se plaquer sur la bougie, obstrue les pores et rien ne s'écoule. Aussi pour réussir la filtration, est-on obligé de diluer (parfois après avoir homogénéisé) les matières telles que crachats, selles, pus, etc... L'opération s'accomplit beaucoup mieux et on obtient facilement une quantité suffisante de liquide.

L'alcalinité ou l'acidité du milieu joue aussi un rôle important et qui — chose curieuse — n'a pas été beaucoup étudié en bactériologie.

Hugounenq filtrant de la caséine, s'aperçut que plus le milieu était alcalin, mieux la caséine passait.

Holderer, dans sa thèse de doctorat ès sciences, contate que toutes les diastases filtrées sur bougie Chamberland L neutres au méthylorange, sont retenues. Elles passent au contraire si la réaction du liquide à filtrer est plus alcaline. Il signale aussi des faits curieux, tels que le changement de réaction par filtration (le méthylorange

avec de l'eau légèrement acide, donne une coloration rose au filtrage). Le filtrat est incolore. On ajoute une goutte de méthylorange : on obtient une coloration jaune.

Les expériences faites avec les diastases lui font penser que des phénomènes semblables doivent s'accomplir avec les microbes. Il cite à l'appui de son hypothèse la remarque suivante : les spores d'Aspargillus niger sont retenues par une simple filtration sur papier en réaction neutre au méthylorange, tandis qu'elles passent à la neutralité à la phénolphtaléine. Il y a là, selon nous, la base d'un travail extrêmement important et intéressant, Il n'a jamais été entrepris à notre connaissance.

La grosseur des germes intervient aussi dans la filtration, il est inutile d'insister sur ce qui est de notion courante. Quand on filtre bien, les microbes visibles ne passent pas, quelle que soit leur taille. Au contraire, les germes que leur dimension infime cache à notre vue, traversent les filtres de porcelaine.

En résumé, nos connaissances théoriques sur la filtration des bactéries sont assez imprécises encore à l'heure actuelle. Pratiquement, nous pouvons tout de même établir un certain nombre de conditions, telles que, si nous nous y soumettons, nous filtrerons bien et nous ne laisserons passer à travers les pores de la porcelaine que les germes qui sont invisibles.

Il est nécessaire, pour bien filtrer, d'utiliser des bougies neuves ou parfaitement régénérées et bien vérifiées. La pression que l'on devra exercer sur le liquide à filtrer

ou le vide qu'on devra établir autour de la bougie ne devront pas dépasser 20 à 30 cm. de mercure. La filtration devra s'effectuer rapidement en un quart d'heure au maximum.

Dans certains cas, il sera utile d'ajouter au liquide à filtrer un test microbien, un microbe mobile ou producteur de pigment : il sera ensuite facile de le retrouver dans le filtrat si l'on a commis une faute de technique. En suivant ces quelques indications, en opérant soi-même surtout, on arrivera rapidement à s'apercevoir qu'il est en somme simple de bien filtrer.

La filtration était pour les premiers auteurs qui s'en sont servi en bactériologie, une méthode de stérilisation. Aucun être vivant microscopique ne pouvait traverser les filtres : on croyait donc posséder, pour certains liquides qui s'altéraient par le chauffage, une technique extrêmement précieuse de stérilisation.

Puis on s'est aperçu — avec le microbe de la péripneumonie, avec le virus d'un certain nombre de maladies telle que la fièvre aphteuse, la mosaïque du tabac — que la stérilisation qu'on pouvait faire ne valait rien, pour certains germes, les virus dit « filtrants ».

Nos connaissances se sont accrues peu à peu et à l'heure actuelle, la valeur des bougies comme appareils de stérilisation est assez fortement battue en brèche.

Les expériences faites en vue de mettre en évidence les éléments filtrants de bacilles tuberculeux

Bezançon et Hauduroy ont repris entièrement les travaux de Vaudremer à titre de contrôle portant sur les modifications morphologiques des bacilles et ils les ont confirmés entièrement.

Leurs essais ont été effectués avec des bacilles tuberculeux pris sur une tranche de pomme de terre glycérinée qu'on ensemençait dans de l'eau peptonée ordinaire.

Les milieux indiqués par Vaudremer (bouillon de pomme de terre, ou pois lupin) sont difficilement utilisables pour une étude de morphologie fine : un précipité existe toujours, qui nuit considérablement à la clarté des préparations.

Les souches utilisées sont au nombre de sept, toutes de provenance humaine. L'ensemencement est fait en prélevant avec une spatule un gros fragment de culture qui est immédiatement introduit dans un tube d'eau peptonée. On capuchonne et on porte à l'étuve à 37° ; les modifications s'opèrent lentement et au septième jour, on constate les faits suivants : le morceau de culture est tombé au fond du tube, le milieu est parfaitement clair. Si on agite, on voit s'élever une poussière de grains de petite taille, qui ne se libèrent que si on agite fortement. Ces grains semblent retenus autour du fragment de la culture de pomme de terre (formée de bacilles de Koch acido-résistants normaux) par une sorte de gangue invi-

sible. Vingt jours après le début de l'expérience, on a les aspects suivants : le milieu est clair, mais tient en suspension de petits grumeaux très fins. Quand on agite, il s'élève un véritable mycélium plus ou moins abondant, suivant les souches.

Les modifications morphologiques sont fort intéressantes à suivre. Le petit fragment de culture normale qui a servi à l'ensemencement, ne montre, après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen, que des bacilles rouges acido-résistants et très peu de « substance bleue ». Sept jours après l'ensemencement, on trouve des bacilles acido-résistants et autour d'eux une grande quantité de substance bleu anastomosée en réseaux.

En certains points de la préparation, on aperçoit des filaments colorés en bleu, dont la longueur est variable.

Parfois égale à celle d'un bacille de Koch ordinaire, elle est souvent trois à quatre fois plus grande. Ces filaments sont très fins, très réguliers, très nettement délimités.

Ils sont isolés ou anastomosés, se disposant de temps en temps comme les rayons d'une roue. Sur le trajet de ces filaments, on trouve à intervalles réguliers des grains non acido-résistants, colorés très nettement en bleu.

La grosseur de ces grains est variable. Dans certains cas, il sont très petits et n'apparaissent dans le filament que parce que leur protoplasme est probablement très condensé. Dans d'autres cas, ils sont très gros, atteignant la taille d'une sarcine. Il ne semble y avoir aucune régularité dans leur disposition, petits ou gros pouvant voisi-

ner côte à côte sur le même filament. Enfin on voit des grains isolés et dispersés dans la préparation.

Les modifications morphologiques observées ne semble guère varier avec le temps ; peut-être au bout de plusieurs mois le nombre de grains non acido-résistants est-il plus grand, les réseaux filamenteux plus abondants, mais il n'apparaît pas de nouveaux éléments.

Vaudremer, quand il eut mis en évidence les modifications morphologiques, se demanda si certains des éléments non acido-résistants apparus dans les cultures n'étaient pas capables de traverser les filtres de porcelaine.

Il fit passer ses cultures à travers des bougies Chamb. L3 et constata qu'il apparaissait dans le filtrat après quelques jours d'étuve, une culture. Celle-ci, dit-il, était composée d'éléments non acido-résistants et pouvait se repiquer en série avec difficulté d'ailleurs.

Travaux de Vaudremer et Hauduroy

Vaudremer et Hauduroy se sont demandé s'il n'était pas possible de réussir immédiatement la filtration sans être obligé de passer par les ensemencements dans les milieux spéciaux.

Ils ont opéré de la façon suivante : ils ont pris six souches de bacilles de Koch, cultivées sur pomme de terre glycérinée et venant de la collection de l'Institut Pasteur et du laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine. *a*) les bacilles poussés sur la tranche de pomme de terre ont été émulsionnés dans de l'eau physiologique et

filtrés sur une bougie Chamb. L^3. — *b*) les bacilles poussés dans l'eau peptonée glycérinée ont été filtrés sur une bougie semblable.

Dans les deux cas, la filtration a été faite sous faible pression (10-5 cm de Hg) en un temps court (10 minutes) à travers des bougies éprouvées préalablement. Pour rendre l'expérience plus démonstrative, des cultures de Bacterium Coli et de bacille typhique ont été ajoutées au liquide à filtrer.

I. — *Filtrat de l'eau peptonée glycérinée :* Après 48 heures d'étuve à 38°, on voit dans le fond du tube contenant le liquide filtré un dépôt abondant, le liquide est resté clair, mais si on agite le tube doucement, le dépôt s'élève du fond et reste en suspension dans le milieu sous la forme d'un fin mycélium retenant dans ses mailles de petits amas jaunâtres. Si on agite le tube plus fortement, le mycélium se désagrège et le milieu devient trouble ; si on repique les cultures obtenues en bouillon Martin, en bouillon ordinaire, en bouillon de pomme de terre ou en eau peptonnée à 2 % on obtient en 48 heures des cultures de même aspect.

Ces cultures, disent-ils, sont repiquables en série.

II. — *Filtrat de l'émulsion bacillaire :* Pendant quinze jours, ce filtrat ne paraît pas pousser à 38°, mais ce temps écoulé, on voit apparaître au fond du tube un dépôt pareil à celui que nous avons signalé dans le filtrat de l'eau peptonée ; ensemencé dans les mêmes milieux que le précé-

dent, il pousse dans le même temps et sous le même aspect.

Le retard de la culture s'explique si on rappelle que l'émulsion bacillaire a été faite dans de l'eau physiologique ne contenant qu'un peu de glycérine entraînée par les bacilles au moment de leur prélèvement.

Pour déceler rapidement l'existence des germes ayant traversé la bougie, il suffit d'ensemencer le liquide filtré dans de l'eau peptonée à 2 % aussitôt après sa filtration, 48 heures plus tard, la culture apparaît, semblable à celles qu'on vient de décrire. D'après Philibert, il y a souvent un retard plus grand atteignant parfois une quinzaine de jours.

Aspect microscopique des cultures : L'aspect microscopique des cultures développées dans les deux filtrats est le même. Les préparations fixées à l'alcool-éther, colorées rapidement (2 minutes) au Ziehl à froid, sans décoloration ultérieure, montrent un lacis délicat de filaments anastomosés entre eux. Sur ces filaments, on voit des grains inégalement distants les uns des autres, fortement colorés.

Le volume de ces grains varie entre la limite de la visibilité et la dimension d'un grain de millet.

De place en place, on voit des formes bacillaires courtes ou longues, granuleuses, incurvées ou rectilignes. Ces éléments qui se colorent mal au bleu de Méthylène, prennent fortement le violet de gentiane. *Les grains sont granirésistants, les formes filamenteuses ne le sont pas.* Après

coloration au Ziehl à chaud et décoloration par la solution de chlorhydrate d'aniline à 2 %, on constate la présence de quelques éléments acido-résistants ; cette acido-résistance est faible, puisque, après décoloration à l'acide nitrique dilué à 1/3, on ne trouve plus de formes colorées en rouge dans les préparations.

Vaudremer avait donc fait la preuve que le bacille tuberculeux possédait non seulement la forme acido-résistante que nous lui connaissons, mais d'autre formes non acido-résistantes dont certaines sont assez petites pour traverser les filtres de porcelaine. Ces derniers donnent naissance à des formes mycéliennes, filamenteuses, granulaires non acido-résistantes.

A propos de ces recherches, il est préférable de faire certaines remarques.

Tout d'abord, les filtrats obtenus à partir des cultures de bacilles tuberculeux modifiés ou non, ne contiennent rien de « visible » au microscope. Hauduroy a fait seul ou en collaboration avec Vaudremer, de nombreux essais pour tenter d'apercevoir quelque chose. Jamais ils n'ont pu mettre en évidence un seul élément organique.

Les bougies qui ont servi dans leurs expériences étaient soigneusement vérifiées, souvent ils ajoutaient au liquide à filtrer un microbe mobile, tel que du B Coli. Si la bougie avait eu un défaut, ils auraient pu trouver dans le filtrat ou dans son culot de centrifugation, quelques éléments. Dans l'état actuel de nos techniques, il est impossible de mettre en évidence dans les filtrats qui s'accollent à la bougie aucun élément organisé.

Pouvoir pathogène des formes filtrantes dans les cultures

Quel est le pouvoir pathogène de ces formes? Vont-elles donner à l'animal la tuberculose expérimentale classique que nous connaissons, ou bien vont-elles faire une bacillose d'allure spéciale ?

Vaudremer, dit que l'inoculation sous-cutanée des cultures apparues dans les filtrats, produit chez le cobaye des indurations locales. Ces indurations se développent en huit jours environ et disparaissent en trois semaines; elles ne déterminent pas de tuberculose généralisée.

L'inoculation intra-veineuse détermine une polyadénite tardive généralisée et, exceptionnellement, des périarthrites conjonctives. Ces lésions rappellent la micro-polyadénite des enfants et le syndrome de Poncet.

Parfois, dit Vaudremer, trois ou quatre mois après l'infection, on trouve chez quelques-uns des animaux en expérience un ganglion inguinal ou sous-maxillaire, en voie de ramollissement. L'ensemencement du pus caséeux renfermé dans ce ganglion, sur Petroff ou sur pomme de terre glycérinée, donne naissance à des cultures discrètes qui se développent en six semaines ou deux mois. Ces cultures sont formées de granules libres ou disposées en chaînettes de trois ou quatre éléments. Ces *granules sont acido-résistantes*. Ils semblent être séparés en deux demi-cercles par un axe interpolaire. Après une série de repiquages sur Pétroff ou sur pomme de terre glycérinée,

ils récupèrent la forme typique du bacille de Koch. Quand on connaît les formes granulaires qu'on vient de décrire, on s'aperçoit qu'elles ne sont pas rares dans les crachats des vieux tuberculeux pulmonaires fibreux. Ces formes granulaires nous semblent être le premier stade du retour à la forme bacillaire acido-résistante. On n'a jamais pu l'obtenir en partant d'une culture très involuée, sans passer par l'animal.

Les éléments granulaires ayant récupéré l'acido-résistance à la suite d'un premier passage par l'animal, déterminent une escarre qui apparaît en 48 heures et disparaît en six semaines environ, quand ils sont injectés sous la peau du cobaye. L'animal ne se tuberculise pas. En revanche, ces éléments tuent parfois les cobayes, quand ils sont injectés par la voie intraveineuse : sur dix animaux mis en expérience, il est habituel d'en perdre cinq ou six dans les huit jours qui suivent l'injection. Les animaux qui survivent présentent, deux mois plus tard, une forme de résistance très particulière à l'infection. En effet, l'inoculation d'une base massive de bacilles tuberculeux humains virulents détermine, au point où elle est faite, un nodule qui n'apparaît que trois ou quatre semaines plus tard. Ce nodule grossit lentement, se ramolit, se vide et disparaît sans ulcérer la peau et sans déterminer le chancre d'inoculation habituel chez le cobaye. Les témoins, eux, présentent le plus souvent un chancre d'inoculation grand comme une pièce de un franc. D'ailleurs, la résistance locale dont il est question ne confère au cobaye traité aucune immunité générale.

Les expériences en cours nous apprendront si des injections répétées sont capables de produire une immunité plus forte.

Vaudremer, en collaboration avec Hauduroy, ont inoculé, à plusieurs reprises, de telles cultures aux cobayes. Ils ont toujours obtenu le résultat suivant :

Les animaux mouraient dans un délai de six à sept jours, avec un amaigrissement considérable, ne présentaient pas de ganglions, pas de lésion au point d'inoculation, pas de tuberculose microscopique, mais une légère hypertrophie des surrénales. La dose inoculée était de 2 cc. d'une culture en bouillon (deuxième repiquage après la filtration). A quoi sont dus ces résultats un peu différents de ceux obtenus primitivement par Vaudremer ? La seule hypothèse qui leur semble plausible est la suivante : Les germes maniés dans leurs expériences étaient particulièrement dégradés, très éloignés du bacille tuberculeux normal. Ils ne possédaient qu'une virulence atténuée ou tout au moins très différente de celle du bacille de Koch normal.

La preuve semble donnée à Hauduroy, par le fait suivant: il inocule à un cobaye sous la peau avec 2 cc. d'une culture en bouillon de bacilles de Koch modifiée (2e repiquage). Au deuxième jour, l'animal meurt. On ensemence immédiatement le sang du cœur dans du bouillon ordinaire ; après 48 heures5 d'étuve, on voit apparaître une culture formée d'éléments mycéliens non acido-résistants, semblable à ceux dont on était parti, et quelques bacilles acido-résistants.

En somme, Hauduroy dit avoir réussi à fermer le cycle : bacilles acido-résistants — éléments non acido-résistants — bacilles acido-résistants en passant par l'animal. Valtis a filtré lui aussi les cultures de bacilles de Koch âgées de trois à huit semaines, a inoculé immédiatement le filtrat à forte dose (10 cc.) à des cobayes. Ceux-ci sont morts tardivement (81 jours, 144 jours après). A l'autopsie, « les ganglions inguinaux et sous-lombaires n'étaient pas augmentés de volume, mais les ganglions trachéo-bronchiques étaient tuméfiés et il existait au niveau du lobe supérieur droit un petit foyer d'hépatisation avec quelques points blancs à contenu purulent. Dans les frottis de ces lésions, on trouvait des bacilles de Koch granuleux acido-résistants en amas ». Arloing et Dufourt n'ont, par contre, pas réussi à tuberculiser les cobayes avec des filtrats de culture.

Eléments filtrants dans les produits pathologiques

Crachat. — L'étude de contrôle et de répétition des expériences de Fontès avait été confiée au professeur Calmette et à ses collaborateurs ; ils ont commencé leurs recherches sur des crachats de tuberculeux. Ils ont procédé de la façon suivante pour pouvoir obtenir des bacilles tuberculeux dans ces crachats. Les crachats contenant des bacilles tuberculeux furent mis à l'étuve à 37° pendant trois jours, suivant la méthode de Bezançon, Philibert et Mathieu ; les bacilles tuberculeux s'y développèrent et ils en trouvèrent dans la sédi-

mentation 60 à 70 par champ. Ensuite ils inoculèrent sous la peau de deux cobayes témoins ½ cc. de la même sédimentation autolysée.

Ils prélevèrent 5 cc. du même liquide qu'ils émulsionnèrent dans 45 cc. d'eau physiologique. Filtrée d'abord sur papier recouvert de terre d'infusoire et puis sur bougie Chamb. L2. pour chaque expérience la perméabilité des bougies avait été éprouvée par ensemencement de quelques gouttes du filtrat en bouillon Martin. Ils ne purent découvrir aucun élément visible dans le filtrat ; l'ensemencement dans différents milieux (milieu Pétroff. milieu à l'Œuf de Beseredka, dans pomme de terre, bouillon glycériné) étant toujours resté stérile.

Dans une première expérience deux animaux furent inoculés avec 5 cc. de filtrat préparé le 18 avril 1923 ; l'un mourut accidentellement, l'autre, 96 jours après l'inoculation, présenta une légère tuméfaction ganglionnaire au voisinage du point d'inoculation ; dans la partie supérieure du poumon gauche on trouva une petite cavité contenant du bacille de Koch.

Les cobayes sacrifiés à la même date présentèrent bien une tuberculose généralisée.

Une seconde expérience entreprise par Valtis donna un résultat à peu près analogue.

Il a procédé le 10 novembre 1923 à une troisième expérience dans les mêmes conditions, la séparation des animaux étant bien surveillée dans une pièce où il n'y avait aucune cage d'expérience pour la tuberculose.

On injecta à 10 cobayes 10 cc. de filtrat au lieu de

5 cc. Deux témoins injectés avec des crachats non filtrés moururent de la tuberculose généralisée en 60 jours.

L'un des dix cobayes dont l'injection avait été faite avec le filtrat mourut également dans un même délai avec une tuméfaction légère des ganglions inguinaux, une hépatisation du lobe supérieur du poumon droit et une autre cavité purulente localisée dans cette zone hépatisée. L'examen du liquide purulent et du tissu du voisinage montra des bacilles de Koch longs, granuleux, en petits amas, rares et difficiles à trouver.

Vaudremer examina le crachat des tuberculeux pulmonaires chroniques, il vit parfois des granules acido-résistantes ayant les dimensions d'un gros coccus; ils étaient traversés par un sillon interpolaire qui les faisait ressembler à des méningoccoques qui auraient été acido-résistants. « Au premier abord, dit l'auteur, ils paraissaient isolés ; mais en réalité c'était les éléments constituants du bacille moniliforme ».

Un examen microscopique permit de s'en rendre compte. Il reconnut aussi, qu'il ne s'agissait pas de granules de Much.

Le pus. — Valtis a essayé une série de recherches pour déceler les formes filtrantes de bacilles tuberculeux dans le pus. Il prit le pus d'un ganglion mésenthérique caséeux d'un singe. Le pus de ce ganglion contenait des bacilles en très grand nombre.

Il procéda de la façon suivante : deux ou trois centimètres cubes de pus furent mélangés dans un tube à essai

contenant des perles de verre avec le double de leur volume d'eau physiologique. La masse dissociée par agitation a été conservée à l'étuve à 37° pendant trois jours. 5 cc. de ce liquide émulsionnés avec 45 cc d'eau physiologique furent filtrés d'abord sur papier recouvert de terre d'infusoire, puis sur bougie Chamb. L2.

Les milieux nutritifs usuels qui servirent à éprouver la perméabilité de la bougie sont restés stériles. Les 10 cc. de filtrat ainsi préparé furent inoculés sous la peau de deux cobayes le 7 décembre 1923 qui furent entièrement isolés.

L'un de ces animaux mourut accidentellement ; l'autre mourut 37 jours après. Les ganglions inguinaux, surtout du côté de l'inoculation paraissaient tuméfiés et contenaient des bacilles de Koch; les ganglions sous-lombaires et trachéo-bronchique étaient aussi tuméfiés.

Sur le poumon gauche il trouva une granulation tuberculeuse. Dans les ganglions trachéo-bronchiques il décela des bacilles longs, granuleux en amas.

Une seconde recherche fut faite dans le laboratoire du docteur Sergent : Au cours d'une expérience entreprise pour la vaccination des cobayes contre la tuberculose Vaudremer et H. Durant firent la recherche suivante : 10 cc. de pus tuberculeux d'origine humaine provenant d'un abcès froid traité à l'hôpital de Berck furent broyés dans un mortier avec du sable stérile et additionnés d'un même volume d'eau physiologique, l'émulsion fut filtrée et ramenée dans le vide à son volume primitif ; ensuite

on l'inocula dans la cavité péritonéale de deux cobayes, l'un mâle et l'autre femelle à la dose de 1 cc.

L'inoculation fut faite plusieurs fois et à des dates différentes : les 28 novembre, 15 décembre, 4, 10, 13, 17, 18 janvier ; le 5 mars le mâle présentait une orchite gauche avec de gros ganglions inguinaux.

La femelle paraissait saine.

Le 12 avril, l'orchite s'ouvrit, le pus qui s'en échappait contenait des bacilles. 1 cc. de ce pus fut inoculé le même jour à deux autres cobayes ; ces animaux présentèrent le 6 avril des nodules tuberculeux au point d'inoculation.

Liquides pleuraux. — Veber avait observé chez un malade à l'hôpital Laennec un épanchement pleural, survenu un mois et demi après un pneumothorax artificiel, très bacillifère. Un peu plus tard cet épanchement pleural changea de caractère pour devenir nettement purulent et les bacilles commencèrent à disparaître, quatre mois plus tard on ne trouvait plus de bacille à l'examen microscopique.

Le filtrat de ce même liquide pyopneumothorax sur bougie Chamb. L2 par la méthode de Valtis n'avait permis de déceler aucun bacille ni à l'examen direct ni après l'homogénisation

On a inoculé 15 cc. de ce même filtrat, sous la peau de la cuisse de deux cobayes. Pendant deux mois les animaux ne présentèrent pas de chancre d'inoculation. L'intradermo-réaction se montra également négative ; les

ganglions inguinaux restèrent à peine perceptibles. Quatre mois plus tard, l'un de ces cobayes mourut accidentellement ; à l'autopsie on ne constata aucune lésion macroscopique des organes, sauf l'hypertrophie des ganglions trachéo-bronchiques. L'autre cobaye fut sacrifié au bout de quatre mois et huit jours. A son autopsie on ne trouva que les mêmes lésions c'est-à-dire une hypertrophie accentuée des ganglions trachéo-bronchiques sans aucune lésion macroscopique des autres organes. Seulement les frottis des pulpes de ces organes montrèrent un certain nombre de bacilles acido-résistants.

« Il résulte de ce fait, dit l'auteur, que chez les tuberculeux un liquide de pneumothorax artificiel primitivement riche en bacilles peut devenir quelques mois plus tard indemne de toute forme bacillaire visible au microscope.

2° Que ce liquide filtré à ce moment sur bougie Chamb L2, communiquerait aux cobayes une tuberculose ganglionnaire d'un type particulier, caractérisée par l'absence du chancre d'inoculation et la tuméfaction du ganglion trachéo-bronchique et sans hypertrophie notable des ganglions intermédiaires ».

Dernièrement Nasta, après quelques recherches, essaya de montrer ces mêmes formes filtrables du bacille tuberculeux dans l'épanchement de pleurésie séro-fibrineuse : il prit du liquide pleural d'un sujet atteint de tuberculose pulmonaire (service du docteur Rist, à l'hôpital Laennec) ayant fait une pleurésie séro-fibrineuse. Il le filtra sur bougie Chamb. L2, après l'avoir défibrinisé par des

perles et le dilua avec une égale partie d'eau physiologique. Il injecta 10 cc. de ce filtrat dans le péritoine d'un cobaye ; le cobaye mourut 22 jours après avec une légère hypertrophie des ganglions lombaires et iliaques dont les frottis purent montrer quelques bacilles de Koch acido-résistants.

Il fit la même injection sous la peau de la cuisse à deux autres cobayes, à la dose de 10 cc. ; l'un d'eux présenta un engorgement avec légère hypertrophie des ganglions inguinaux du côté de l'inoculation, qui disparut quelques jours après.

Une autre expérience fut faite dans le service du Professeur Bezançon, à l'hôpital Saint-Antoine, avec du liquide de l'épanchement séro-fibrineux d'un malade. A l'examen on constata des lymphocytoses et des bacilles de Koch dans le culot de centrifugation ; filtré dans les mêmes conditions que les autres.

On inocula ce liquide sous la peau de deux cobayes à la dose de 10 cc. ; ils moururent cinq jours après l'opération. A l'autopsie on ne trouva rien de suspect ; mais sur des frottis de l'un d'eux seulement, on a pu déceler des bâtonnets acido-résistants.

Ganglions trachéo-bronchiques. — Valtis broya à l'institut Pasteur, le 29 décembre 1925, des ganglions d'un enfant mort de tuberculose, riche en bacilles, dans un mortier avec du sable stérile, ce broyage fut délayé et émulsionné dans 50 cc. d'eau physiologique, après un séjour de 24 heures à la glacière ; on le filtra sur une

bougie Chamber. L2 avec l'addition d'une culture de choléra des poules : Ce filtrat fut ensemencé dans des tubes de bouillon de Martin et sur gélose sans aucun résultat. On l'inocula dans la cavité péritonéale de deux cobayes à la dose de 5 cc. : L'un d'eux mourut 2 ou 3 jours après sans lésion et ne donna aucun bacille sur les frottis de ses organes, l'autre mourut 12 jours après l'inoculation. A son autopsie les ganglions mésentériques étaient hypertrophiés, tandis que les ganglions trachéo-bronchiques étaient tuméfiés. A l'examen des frottis de ces ganglions trachéo-bronchiques, on trouva des bacilles de Koch en abondance.

Une autre expérience fut faite par injection intra-péritonéale à deux cobayes à la dose de 5 cc. avec le même filtrat après un séjour de huit jours à la glacière. L'un mourut trois jours après l'inoculation sans lésion ; l'autre mourut 13 jours après.

A l'autopsie on trouva des nodosités sur le grand épiploon, une adénite sous splénique et une tuméfaction des ganglions trachéo-bronchiques ; les uns et les autres contenaient des bacilles de Koch en quantité.

Liquide céphalo-rachidien. — Arloing et Dufourt ont inoculé à un cobaye nouveau né le filtrat d'un liquide céphalo-rachidien riche en bacilles ; un autre cobaye nouveau né de même mère ne reçut rien et resta comme témoin.

Au bout de trois semaines le premier cobaye, qui subit l'inoculation du filtrat, commença à maigrir, il se cachec-

tisa et mourut. A l'autopsie, on trouva de nombreux bacilles dans divers ganglions qui ne présentaient pas de lésions macroscopiques apparentes. Tandis que le cobaye témoin continua à pousser normalement.

Lorsque l'on inocule les filtrats sous toutes formes aux cobayes par la voie péritonéale, les bacilles se localisent rapidement dans les ganglions lymphatiques, surtout au niveau des ganglions trachéo-bronchiques. D'après Valtis on les trouve dès le 12e jour sous la forme acido-résistante typique et ces éléments filtrables conservent pendant huit jours à la glacière leur pouvoir pathogène.

Si l'on examine les frottis lymphatiques sur les ganglions trachéo-bronchiques hypertrophiés des cobayes inoculés par le filtrat, on décèle après une longue recherche des bacilles acido-résistants soit isolés, soit groupés en amas.

On les retrouve, dit Valtis, plus aisément pendant les deux premiers mois qui suivent l'inoculation ; après ce délai ils sont susceptibles de disparaître.

Dans quelques cas rares on rencontre des lésions tuberculeuses des organes comme le poumon et la rate, avec l'aspect macroscopique nodulaire bourré de bacilles acido-résistants. A propos de ces lésions, rarement rencontrées, nous nous permettons de citer respectueusement l'avis du professeur Bezançon, qui n'a rencontré, en aucun cas, des lésions tuberculeuses dans ses expériences.

F. Arloing, Dufourt, puis Arloing, Dufourt, Malatre, ont répété et confirmé les expériences précédentes;

ces auteurs ont remarqués, en outre, que l'infection provoquée par l'inoculation des filtrats de bacilles tuberculeux se traduit parfois par l'apparition momentanée de *l'énergie tuberculinique*, peu durable, car elle cesse par la destruction de l'organisme du virus filtré.

Arloing a qualifié ce destructif du nom de *virus labile*.

A l'Etranger. — A l'étranger, Vannuci, ainsi que Verdina, Carlo, ont réussi à les répéter et à mettre en évidence les éléments filtrables du bacille tuberculeux dans les produits tuberculeux et dans les cultures.

Titu Vasiliu et Irjminoiu, en Roumanie, ont filtré sur bougie Chamb. L3 les produits tuberculeux et les cultures de bacille de Koch. En Italie, Dessy, Petragnani, Montemartini ; en Allemagne Jossler, n'ont pas pu obtenir des résultats confirmatifs, par conséquent, ils ont toujours donné des conclusions négatives ; Valtis interprète leurs échecs de la façon suivante : Ces échecs résultent probablement, dit l'auteur, soit de ce que certains de ces expérimentateurs s'attendaient à trouver à l'autopsie des animaux inoculés avec les filtrats, les lésions habituelles de l'infection tuberculeuse du cobaye ; soit de ce que d'autres, comme Montemartini, ont bien observé la tuméfaction du système ganglionnaire, mais n'ont pas suffisamment prolongé leurs recherches en vue de découvrir les bacilles que ces organes pouvaient recéler. Ce qui rend encore ces expériences plus difficiles, c'est que la recherche des bacilles dans les frottis est extrêmement longue ».

Une autre cause probable de leurs échecs, dit-il, c'est que la dose de leur filtrat injectée a été trop faible.

Par contre, Van Beneden, à Liège, Floyd et Marcaret Chase, Herrick en Amérique, F. R. Partearroyo, Saladino, Cramarosoa, à l'Institut Alphonse III, à Madrid, ont réussi à leur tour à filtrer les différents produits tuberculeux et les cultures et ont obtenu par inoculation aux cobayes, des lésions analogues à celles que nous avons décrites dans les expériences précédentes.

Problème de l'hérédité tuberculeuse

Conséquence de la découverte des éléments filtrants

La découverte de Vaudremer, en 1923, sur l'existence de la forme filtrante du virus tuberculeux dans les cultures, ainsi que dans les produits pathologiques bacillaires, aujourd'hui semble être admise par presque tous les auteurs, après une série de recherches et de critiques.

Après Vaudremer, Hauduroy Calmette, Valtis, Durand, Arloing et Dufourt apportèrent constamment à leurs recherches des résultats analogues.

Cette question nouvelle a une très grande importance, surtout lorsqu'on s'occupe de l'hérédité.

On sait que l'ancienne conception admise jusqu'alors par l'unanimité des phtisiologues sur la non hérédité de l'infection bacillaire, est basée exclusivement sur l'unité morphologique du bacille tuberculeux. En effet, la transmission de la tuberculose sous cette forme acido-résistante, de la mère à l'enfant est extrêmement rare, car cette

forme est la moins fréquente parmi les bacilles pathogènes. « Quand on les recherche, dit Vaudremer, dans la nature ils sont quasiment introuvables ; dans certaines lésions humaines cliniquement bacillaires, on ne les rencontre qu'exceptionnellement.

D'où découle la notion classique d'admettre cette hérédité exceptionnelle ; toutefois, dans l'immense majorité des cas, l'hérédité ne fait que préparer le terrain et rend l'organisme accessible à la contagion. D'autre part, l'infection qui survit dans les villes et frappe l'espèce humaine, ne se transmet que par le contact direct. L'importance de cette donnée, en effet, au point de vue de la prophylaxie et de l'hygiène est considérable.

On admet de plus qu'une première contamination directe, non suivie d'une nouvelle à date rapprochée, confère une immunité relative mais suffisante pour protéger contre l'infection.

Depuis que Vaudremer a montré l'existence des différents aspects des formes bacilliaires, on se permet de se demander, comme Arloing et Dufourt, qui ont déjà posé la question, si la tuberculose ne se transmet pas sous la forme bacilliaire acido-résistante ; ne peut-elle donc se transmettre sous une forme qui ne serait autre que le virus filtrant ? Avec tous les travaux et expériences que nous venons de rapporter dans les articles précédents, cette question nous semblerait avoir été établie, et il y a lieu actuellement de prendre l'hérédité en considération en matière de tuberculose. Par contre, les formes de ces éléments filtrables qui traversent les bougies Chamber-

land et pénètrent dans l'organisme restent actuellement obscures.

Si ce n'est pas la forme mycélienne, des granulations chromophyles, car on ne les a jamais trouvées dans le filtrat centrifugé, ce serait fort probablement des éléments encore plus petits, comme pense Valtis, et invisibles à nos procédés d'examen actuels. Il est possible que ces éléments jouent un rôle dans la transmission directe de la mère à l'enfant de l'infection bacillaire. Calmette et ses collaborateurs se sont attachés à cette étude depuis 1925 et ont fait connaître, dans une note, à l'académie des sciences, le résultat de leurs recherches expérimentales.

Ils ont injecté dans le péritoine de deux cobayes « infectés de tuberculose » 20 cc. d'une émulsion ainsi préparée :

Bacilles tuber. « origine bovine, Vallée, frais essorés	0,30 centig.
Eau physiologique stérile	40 cc.
Emulsion de mie de pain stérilisée	10 cc.
Glycérine stérile	10 cc.

Ils ont pris l'exsudat péritonéal de ces cobayes après leur mort, ils l'ont filtré à 2 reprises sur bougies Chamb. L3 sous pression de 40 cc. de Hg.

L'ensemencement du filtrat n'a donné lieu à aucun développement.

Onze cobayes ont subi des injections sous-cutanées de

1 cc. de ce filtrat le 18 juin 1925
1 ½ cc. du même filtrat le 22 juin 1925
2 cc. — le 26 juin 1925
8 cc. — le 2 juillet 1925.

Trois parmi eux sont morts les 10 et 28 juillet et 3 août, ils ne présentaient aucune lésion tuberculeuse apparente, mais leurs ganglions trachéo-bronchiques étaient légèrement hypertrophiés et contenaient des bacilles de Koch acido-résistants.

Un quatrième cobaye femelle de la même série a donné naissance, le 27 juillet, à deux jeunes, dont l'un mort, n'a pu être autopsié ; le deuxième a été sacrifié une semaine après. Un de ses ganglions mésentériques était gros comme un petit pois et contenait des bacilles de Koch acido-résistants typiques.

Une seconde expérience fut faite avec un voile de culture de bacilles tuberculeux, d'origine bovine, âgé de vingt jours. Il a été émulsionné dans 50 cc. d'eau physiologique et laissé pendant 48 heures à l'étuve à 38°, puis additionné du microbe du choléra des poules pour le contrôle du filtre et filtré sur bougie Chamb. L^3 dans les mêmes conditions que la première fois.

Le filtrat ensemencé est resté toujours stérile.

Un cobaye femelle reçoit 20 cc. de ce filtrat sous la peau, en état de gestation, le 18 septembre, 15 cc. le 21 et 10 cc. le 1er octobre.

Vingt jours après la première injection, c'est-à-dire le 12 octobre, elle met bas quatre petits cobayes.

L'un est sacrifié dès sa naissance ; à l'autopsie, on trouve un ganglion hypertrophié, autour des vaisseaux porte, à leur examen sur les lames on a trouvé des bacilles acido-résistants typiques.

Un peu plus tard, Arloing et Dufourt ont apporté leurs expériences en faveur de la confirmation des expériences précédentes.

Il s'agit là d'un nouveau-né prématuré, d'une mère tuberculeuse avancée, né le 31 octobre 1925.

« Poids de l'enfant 1.310 gr. et celui du placenta 310 gr. ; l'enfant séparé de sa mère est mis en couveuse.

Température 34,2 à 35° ; tétée 30 gr.; pas de vomissements, examen somatique négatif, le foie et la rate ne sont pas perçus.

Le 9 novembre, la température monte à 37° et s'y maintient jusqu'au dernier jour.

Poids le	12 novembre	1.300 gr.
	22 novembre	1.400 gr.
	3 décembre	1.495 gr.
	9 décembre	1.440 gr.
	20 décembre	1.170 gr.

La mort arrive le 25 décembre au soir, après une perte rapide de poids ; l'enfant s'est éteint sans cause connue.

L'autopsie ne montre aucune trace de lésion tuberculeuse. Les ganglions mésentériques étaient un peu hypertrophiés et les ganglions trachéo-bronchiques n'étaient pas visibles.

L'inoculation de fragments de viscères fut pratiquée à des cobayes qui restèrent sains.

Mais dans les ganglions mésentériques, on a vu sur frottis, un certain nombre de bacilles acido-résistants. Le filtrat de ces ganglions fut inoculé à des cobayes ainsi que le filtrat de divers organes.

Ces cobayes se mirent à perdre du poids et périrent cachectiques, alors que tous les autres restaient en bonne santé ».

Ils présentèrent à l'autopsie, des bacilles dans leurs ganglions mésentériques.

Plus tard, Calmette, Valtis, Lacomme, examinèrent dix nouveau-nés de mères tuberculeuses, dont les ganglions et les viscères de 9 sur 10 présentèrent des bacilles de Koch, sans aucune lésion macroscopique.

Il est donc possible que ces virus filtrants, contenus dans les produits tuberculeux et dans les cultures, soient susceptibles de traverser sans aucune lésion et sans laisser aucune trace visible de leur pénétration, dans le placenta normal du cobaye.

A propos de cette question, le professeur Sergent apporte l'observation suivante à titre purement documentaire :

Le 7 février 1926, le placenta d'une femme tuberculeuse, accouchée, ne décela de lésion tuberculeuse en aucun endroit.

Des fragments ont été prélevés aseptiquement en différents points de la masse ; broyés au mortier, stérilisés et réduits en pulpe ; un centimètre cube a été prélevé de

cette pulpe et inséré entre l'aponévrose et le muscle de la paroi abdominale d'un cobaye le 8 février.

Le 11 février, l'animal présente une collection purulente, grosse comme une noisette, constituée par un pus grumeleux, dans lequel la coloration Ziehl a montré l'existence de nombreux bacilles de Koch.

Arloing et Dufourt ont également obtenu un résultat positif dans une autre expérience.

Un cobaye femelle, par injection sous-cutanée, avait reçu 2 cc. d'un filtrat de suc de ganglions trachéo-bronchiques d'un enfant mort de tuberculose. Cette femelle soumise à la fécondation et en état de gestation assez avancée a été sacrifiée « le 30 octobre 1925 » ; à l'autopsoe on a constaté une hypertrophie prononcée des ganglions lympathiques et quelques-uns étaient en état de caséification avec des bâtonnets acido-résistants.

De deux fœtus du poids de 25 grammes d'une mère ainsi infectée, l'un a donné un résultat tout à fait négatif, tandis que l'autre a permis d'obtenir un résultat tout à fait satisfaisant : c'est-à-dire que l'examen sur frottis des ganglions lombaires a montré des bâtonnets longs, granuleux, acido-résistants.

Après avoir obtenu des résultats analogues par ces expériences faites sur des cobayes adultes, sur le problème de l'hérédité tuberculeuse, il était intéressant de procéder à ces mêmes expériences sur des cobayes nouveau-nés. En effet, on pouvait suivre l'évolution de l'infection, dont la localisation se trouve souvent sur le système lymphatique et la variation de pouvoir pathogène

du virus filtré, en même temps que le degré de développement des nouveau-nés. En se basant sur ces considérations, Arloing et Dufourt ont pratiqué et poursuivi certaines expériences.

Ils formulent le problème de l'hérédité comme suit : L'inoculation du virus filtrant aux cobayes nouveau-nés peut, suivant son énergie et sa virulence, aboutir à des résultats divergents.

Dans une première expérience faite le 6 novembre 1925, deux cobayes nouveau-nés sont inoculés avec le filtrat d'un ganglion caséeux de cobaye à la dose de 1 cc. Ils ont été sacrifiés en excellent état apparent le 22 mars 1926, ils ne présentait ni lésion ni bacille au niveau des ganglions lymphatiques. Leur développement était normal.

Dans un second cas, un nouveau-né est inoculé le 11 décembre 1925, avec un filtrat de ganglion caséeux et un autre — de la même portée — reste comme témoin. Le 17 février on a constaté, chez le cobaye inoculé, un retard d'accroissement de poids plus ou moins évident, qui fut compensé ultérieurement. A l'autopsie on a trouvé quelques bâtonnets dans les ganglions trachéo-bronchiques.

Le 17 mai 1926, quatre cobayes ont été inoculés le lendemain de leur naissance, avec un filtrat de crachat tuberculeux « que des expériences concomitantes sur des cobayes adultes contrôlées par intra-dermo-réaction à la tuberculine montrèrent labile ». Au bout de 25 jours ils ont présenté une allergie tuberculinique légère durant 3

semaines avec un retard de développement pondéral ; l'un a été sacrifié après que l'allergie tuberculinique a été disparue, il n'avait pas de bacilles de Koch dans les ganglions, ni de lésions.

Le second est mort spontanément en août 1926 et l'autopsie n'a pu être pratiquée.

Les deux derniers sont actuellement de beaux cobayes adultes.

Ces expériences montrent, dit le professeur Arloing, que les animaux qui ont reçu un virus filtrant labile, peu actif, se borne à éveiller temporairement l'allergie tuberculinique et enfin, dans un autre cas, l'inoculation aboutit à l'hypotrophie, jusqu'à la cachexie mortelle « Syndrome de dénutrition progressive » au bout d'un temps qui oscille de quelques semaines à un ou deux mois.

Sur le terrain de contagiosité héréditaire, Auguste Lumière, de Lyon, avait publié, l'année dernière, une vieille expérience entreprise en octobre 1913.

Sur un lot d'animaux indemnes de bacillose il a prélevé une femelle fécondée pesant 800 gr. ; elle donne, le 4 novembre, une portée de 4 petits.

Aussitôt après, la mère a été séparée et mise en présence d'un mâle inoculé depuis 15 jours, à l'aide d'une culture de bacilles de Koch et atteint de lésions tuberculeuses fermées .

Cette réunion du mâle et de la femelle a donné lieu à une nouvelle fécondation. Après 48 heures de cohabitation, la femelle a été isolée.

Le 12 janvier 1914, il a obtenu une deuxième portée (issue naturellement d'un père seul tuberculeux) composée de trois petits. Une dernière fois, la mère a été mise en présence d'un mâle indemne de tuberculose et, le 20 février, on a obtenu une troisième portée de parents indemnes de toutes lésions tuberculeuses.

Ces trois portées, bien séparées, et surveillées strictement, ont donné lieu aux constatations suivantes : la portée issue du père tuberculeux est morte dans un délai de trois mois, avec des lésions ganglionnaires mésentériques.

Tandis que les deux autres portées (correspondant aux mâles normaux) sacrifiées six mois plus tard en parfaite santé, ont été exemptes de toutes lésions tuberculeuses.

Sept mois après, mort de la mère, l'autopsie n'a pu soulever le moindre doute de l'infection.

Peut-on admettre pour un enfant de parents tuberculeux de naître tuberculeux

Après les travaux de Vaudremer, sur les éléments virulents filtrables du bacille de Koch, Calmette avec Boquet et Nègre avaient montré à l'Académie des Sciences l'existence de ces formes virulentes filtrables du bacille de Koch à travers des bougies Chamberland L2 dans les produits tuberculeux et dans les cultures. Ces formes filtrables invisibles au microscope, inoculées sous la peau de cobayes femelles soit avant, soit pendant la gestation,

pouvaient franchir le placenta pour infecter l'organisme du fœtus.

Cet exposé à l'Académie des Sciences est également confirmé par Arloing et Dufourt chez les cobayes femelles comme nous venons de l'étudier dans les chapitres précédents.

Calmette a poursuivi cette étude avec la collaboration du professeur Couvelaire dans la clinique obstétricale de Baudelocque.

Sur les 100 enfants nés de 99 mères tuberculeuses, venues accoucher à la clinique, et séparés de leurs mères, 21 seulement formaient le déchet total, dont 10 ont été autopsiés (la mort est survenue de 12 à 35 jours après leur naissance).

A l'autopsie, l'examen direct n'a pu révéler aucune lésion apparente. Quant à l'examen microscopique, après la coloration par la méthode de Ziehl, chez trois seulement on a obtenu le résultat positif : les organes des autres nouveau-nés se montrèrent virulents par l'inoculation aux cobayes.

Ils provoquèrent l'apparition, dans divers groupes de ganglions, de bâtonnets colorables par le Ziehl, peu nombreux, mais assez nets. Ils demandent souvent des recherches minutieuses.

Leurs filtrats se montèrent virulents à l'inoculation aux cobayes.

Donc la transmission intra-placentaire du virus tuberculeux, non visible au microscope, pendant la gestation

pourrait être possible et peut-être, non exceptionnelle comme on l'avait cru jusque-là.

D'après l'observation de Couvelaire chez les tuberculeuses enceintes, et tout spécialement quand elles font une poussée évolutive pendant la grossesse, à côté des enfants nés vivants, il y a une grande quantité de mort-nés.

Ceux-ci ne présente habituellement aucune lésion tuberculeuse, mais dans trois cas sur six « Couvelaire », on a trouvé des bacilles acido-résistants dans les viscères comme la rate et les ganglions.

L'inoculation des organes de trois autres fœtus aux cobayes a donné, non des lésions caséeuses, mais simplement de rares bacilles dans leur ganglions.

Quant aux enfants vivants et séparés de leurs mères tuberculeuses, la mortalité est également assez grande, et on trouve, comme cause autre que les affections accidentelles, un état de dénutrition progressive spéciale, qui tient une place importante, mais, sans aucune lésion apparente. Seule l'inoculation de leurs ganglions amène la présence de quelques bacilles.

Arloing cite également la mort hypotrophique d'un prématuré humain un mois après, né d'une mère tuberculeuse, dont la séparation était faite dès sa naissance : ses ganglions récelaient un virus tuberculeux virulent au cobaye.

Ces constatations, ainsi que les précédentes, viennent nous confirmer une hypothèse, encore toute récente au

point de vue clinique, mais déjà ancienne au point de vue expérimental.

Jusqu'à présent, toutes les recherches permettent de mettre en évidence les bacilles, dans le placenta d'une mère tuberculeuse, soit par l'examen direct, soit par le passage au cobaye, qui n'offre aucune lésion tuberculeuse apparente. Au point de vue clinique, peut-on conclure que ces bacilles peuvent filtrer à travers le placenta, pour contaminer le fœtus in-utéro.

Les observations cliniques nous semblent confirmer les recherches faites sur les animaux, et seront des arguments peut-être plus forts, pour résoudre le disparallélisme entre les deux niveaux, clinique et expérimental.

Couvelaire et Calmette, dans leurs observations cliniques à Baudelocque, viennent de donner la conclusion suivante :

A côté de très exceptionnelles transmissions transplacentaires, avec lésion tuberculeuse « in-utéro » il est très légitime de faire une place moins exceptionnelle à des transmissions de virus, qui ne donnent aucune lésion spécifique in-utéro, ni pendant le premier mois de la vie.

Il faut également noter qu'un très grand nombre d'enfants nés viables, de mères atteintes de la tuberculose se nourissent aussi bien que ceux qui sont sains.

Les notions classsiques et les faits nouveaux

A la suite des études abordées en 1907 à la conférence de Vienne sur les voies de pénétration de la tuberculose. S. Calmette vint très justement réclamer contre la doctrine de la pénétration par les voies respiratoires.

Landouzy, dans son rapport à la IXe conférence internationale, exposa la même question, en montrant que, à côté des voies respiratoires et digestives, il en est une autre ; c'est la conceptionnelle.

A la naissance, chez l'homme, comme chez les bovidés, l'hérédo-tuberculose est exceptionnelle si on compte seulement les germes acceptés comme typiques.

Par contre, il est assez fréquent d'observer une dystrophie native, des tares organiques fonctionnelles héréditaires créant des états constitutionnels.

Landouzy cite dans son rapport que cette question de la voie placentaire conceptionnelle jusqu'au XIXe siècle, ne se posait même pas.

G. Kuss, de son côté, déclarait que la contagion intra-utérine ne jouait qu'un rôle négligeable, lorsqu'il s'agissait d'enfant né viable.

Dès 1883, les recherches cliniques et expérimentales de Landouzy et H. Martin se levèrent contre cette opinion. Aujourd'hui tous les auteurs se prêtent plus ou moins unanimement à la défense de cette thèse.

Bezançon appelle l'attention au point de vue diagnostic de la tuberculose, de ne compter seulement encore

que sur les formes de bacilles acido-résistants, et il ajoute d'autre part que « c'est une rareté admise aujourd'hui sans conteste par tous les observateurs ».

Il serait probablement prématuré de croire à cette hérédité et d'admettre la possibilité pour un enfant de naître tuberculeux d'une mère tuberculeuse.

Malgré nos connaissances encore très incomplètes sur ce sujet, au point de vue clinique, il serait utile de croire et d'envisager cette transmission.

LES CONTROVERSES

Dans les chapitres précédents nous nous sommes occupés du problème de la filtrabilité du bacille tuberculeux et des conséquences qui en découlent ; tout en nous inspirant des travaux parus en faveur de cette matière.

Actuellement, nous voyons que cette conception nouvelle, avec ses faits impressionnants, ne se trouve pas acceptée à l'unanimité par les expérimentateurs, et de temps à autre suscite la plus vive controverse dans le monde médical.

En 1912, Philibert avait déjà attiré l'attention sur la non filtrabilité du bacille tuberculeux.

Aujourd'hui encore il y revient, en nous donnant avec amabilité ses précieuses remarques, qui nous ouvrent, tout en nous gardant neutre, un champ de critique.

« Toutes ces expériences, dit-il, sont loin pour nous (Philibert) d'entraîner la conviction. Elles sont passibles de nombreuses critiques, dont quelques-unes ont été déjà formulées :

1° La constatation de corpuscules ou de bâtonnets acido-résistants dans les cultures des ganglions lympha-

tiques de cobayes, en l'absence de lésion histologiquement tuberculeuse, ne peut pas être interprétée comme correspondant à des bacilles tuberculeux.

« Dans les ganglions du cobaye *normal* (comme de celui inoculé avec des filtrats), on trouve des granulations pseudo-fuchsinophiles, « granulation de Russel » et des bâtonnets également fuchsinophiles, qui ne sont point des microbes, ainsi que l'a montré Figerido.

Fontès reconnaît qu'il a mal interprété son expérience d'autrefois; il abandonne la filtrabilité du bacille tuberculeux par ces paroles : « Je croyais, dit-il, pouvoir reconnaître une certaine relation entre ces lésions et une prétendue infection tuberculeuse inapparente ».

« Les travaux fondés sur la seule interprétation, reconnue fausse, de ces débris fuchsinophiles, ne peuvent plus, dès lors, être retenus. La plus grave critique c'est, que si l'erreur a pu se produire, les auteurs n'ont pas fait appel à la méthode de décoloration rigoureuse.

« La culture négative, qui paraissait paradoxale, n'a donc plus rien de surprenant.

2° La présence de filaments cyanophiles dans les cultures faites avec des filtrats ne peut servir de preuve ; trop de filaments sont rencontrés dans l'eau de pomme de terre, même stérile, et nous n'avons pas le droit de les considérer comme appartenant au bacille tuberculeux, s'ils n'évoluent pas à un moment donné vers la formation de bacilles acido-résistants.

3° Enfin, lorsque certains auteurs ont obtenu, contrairement à la majorité, les lésions indiscutablement

tuberculeuses par la primo-inoculation du filtrat, on peut se demander si la filtration n'a pas laissé passer des bacilles intacts.

« Les conditions de la filtration pour retenir à coup sûr un test constitué par un microbe visible, et laisser passer seulement le virus invisible, sont en effet fort délicates et très peu précises. Tout d'abord, il faut toujours employer un test (microbe visible poussant rapidement sur les milieux usuels) tous les microbes visibles traversant les bougies Berkfeild et Chamberland, certains mêmes traversent des bougies plus fines L 3 et plus, lorsque le temps de filtration excède une durée de dix minutes, lorsque la pression est supérieure à 10 cmc., lorsque la bougie a déjà servi une fois, le résultat de ces faits est qu'il faut employer une série de précautions : filtration préalable sur lit de sable et de papier, dilution dans l'eau du matériel à filtrer, emploi exclusif de bougies neuves, addition du test, etc.

« Ces précautions n'ont pas, semble-t-il, toujours été réalisées par les auteurs qui ont cru observer la filtration du bacille ».

Dans son expérience personnelle ancienne, Philibert, sur une vingtaine d'animaux, avait eu un cas de tuberculose généralisée, qu'il avait attribué à une faute de filtration.

Dans cette question de la filtration, il y a aussi des expériences négatives qui ont leur valeur. Sans faire même état de nombreuses expériences anciennes sur le bouillon filtré (où tant de précautions mêmes n'étaient

pas prises) dont l'inoculation expérimentale et thérapeutique n'a jamais provoqué de tuberculose. Rappelons les expériences de Philibert, en 1912, sur dix échantillons de pus divers, avec examen, culture et inoculation, avant et après filtration, avec addition de test.

Eskoven, en 1926, publie des résultats négatifs de filtration. H. Fessler filtre sur bougie L 3, onze souches de bacilles tuberculeux humain, oviaire, bovin ; cultive sur pomme de terre glycérinée et sur milieu à l'œuf, et quelques échantillons de caséum venant de cobaye et de lapin tuberculeux. Les ensemencements de filtrats sur milieux variés, pauvres ou riches, en grand nombre, sont négatifs, sauf dans deux tubes où l'auteur retrouve les filaments cyanophiles de Vaudremer, filaments dont le repiquage aboutit à une colonie de bacilles tuberculeux. Les inoculations sont restées préalablement négatives.

Brul de Figueirido a eu l'occasion d'étudier histologiquement des ganglions lymphatiques de cobaye, inoculé avec un filtrat de liquide pleurétique de nature tuberculeuse et de présenter son étude à la Société de Biologie de Rio de Janeiro à la séance du 14 décembre 1926.

Il a constaté dans les coupes colorées par la méthode de Ziehl-Neelsen la présence en amas d'éléments en forme de bâtonnets, et d'autres cocciformes, et même ovalaires, résistant à la décoloration par le HNO^3 à 30/100.

« Ces bâtonnets existaient, dit-il, quelquefois en si

grand nombre qu'ils rappelaient les soi-disant « glober » constitués par des cellules bourrées de bacilles et fréquemment observées dans des lésions lépreuses. Il s'agissait là, dit Brul, de granulations leucocytaires; « les leucocytes qui contenaient ces bâtonnets et granules acido-résistants étaient localisés de préférence à la périphérie du tissu lymphoïde, et on pouvait les observer également dans les tissus conjonctifs périganglionnaires. Ces tissus ne présentaient aucune des lésions caractéristiques de processus inflammatoire tuberculeux ».

Il a rencontré ces mêmes bâtonnets et ces mêmes pseudo granulations fuchsinophiles de Russel — également étudié par Klein — dans son étude des ganglions lymphatiques péribronchiques de cobaye normal.

Ces pseudo granulations diffèrent des granulations leucocytaires par leur forme globuleuse, par leurs dimensions beaucoup plus grandes et par l'absence de structure et par leur nombre très variable ; ces dernières se présentent quelquefois et dans certaines conditions, chez le cobaye et le lapin, sous forme de bâtonnets acido-résistants.

Dans sa note Brul attire l'attention sur la possibilité qu'il y a de confondre dans certaines conditions d'alcoolo-acido-résistance, les granulations leucocytaires en forme de bâtonnets avec les bacilles de Koch. « Cela en particulier lorsqu'on trouve des bâtonnets dans des tissus qui ne présentent pas les lésions histologiques, caractéristiques de la tuberculose, comme il peut arriver dans les expériences tendant à démonter la filtrabilité ou le

passage à travers le placenta des bacilles tuberculeux ».

A propos de la note précédente de Brul présentée à la Société de Biologie, Fontès fait les remarques suivantes : « Je n'aurais rien à dire dit-il au sujet de cette note, si Brul n'avait pas fait son travail sur un matériel fourni pour moi et s'il n'envisageait pas une possibilité d'erreur dans les conclusions que j'ai présentées à la suite de nos recherches sur la filtration du virus tuberculeux.

« L'origine indiquée par Brul du matériel qui lui a servi d'objet d'étude n'est pas rigoureusement exacte. Ce matériel a été remis par moi à la section d'anatomie pathologique de l'institut, pour la vérification histo-pathologique du diagnostic négatif de la tuberculose, que j'avais déjà fait sur les frottis des ganglions et des viscères. Le matériel provenait d'un cobaye qui avait été inoculé six mois auparavant avec de petits morceaux de poumon d'un autre cobaye, inoculé deux ans auparavant avec des filtrats de pus pleurétique de nature tuberculeuse. Ce dernier cobaye était mort cachectique et présentait à la nécropsie, des infractus pulmonaires, qui à l'examen histo-pathologique, ne firent découvrir aucun bacille acido-résistant, ni lésion macroscopique ou microscopique de nature tuberculeuse.

« L'autre cobaye qui a servi aux études de Brul semblait être en pleine santé six mois après inoculation et montrait des espèces de petites masses tuméfiées dans les régions axillaires et inguinales.

« Croyant qu'elles étaient dues à des ganglions j'ai retiré par biopsie des amas adipeux compacts offrant l'as-

pect du suif, sans que j'aie pu trouver un vestige quelconque des ganglions dans la région.

« Le cobaye est mort quatre jours après la biopsie.

« L'autopsie a montré un développement extraordinaire de tissu adipeux sous-cutané qui se présentait comme une masse de suif interposée entre la peau et les plans profonds, liquide péritonéal purulent, ulcère nécrotique de l'estomac qui était perforé, congestion viscérale généralisée, zone nécrotique dans le foie et infractus pulmonaire.

« La bactérioscopie des frottis des ganglions et des viscères montrait une extraordinaire infection bactérienne.

« Je croyais pouvoir reconnaître une certaine relation entre ces lésions et une prétendue infection tuberculeuse inapparente.

« C'est avec ce matériel que Brul a trouvé les faits mentionnés, dans sa note, laquelle ne présente aucune nouvelle acquisition pour la science ».

Traitement de certaines formes de tuberculose par des bacilles tuberculeux non acido-résistants

---

En 1900, au Congrès international de Médecine, VAUDREMER avait démontré avec Louis MARTIN l'existence d'un poison tuberculeux différent de la tuberculine et pouvant tuer le cobaye par inoculation intra-méningée ou intra-péritonéale.

L'activité de ce poison variait avec les races des bacilles.

Ce poison bactérien qu'on trouvait dans les vieilles cultures, existait aussi dans les cultures jeunes, mais ne diffusait par des corps bactériens sans l'emploi d'un artifice. Il fallait, pour obtenir ce poison, laver les jeunes cultures dans l'appareil de SAXHLET avec de l'éther de pétrole.

Une fois le lavage terminé, les corps bacillaires restant, avaient perdu leur acido-résistance, mais gardaient leur toxicité. Ces cultures jeunes ainsi lavées et les vieilles cultures non lavées, inoculées à la dose de 4/10 de cmc. d'émulsion faible sous l'arachnoïde du cobaye, après trépanation, tuaient l'animal dans le même temps.

En employant des doses inférieures à la dose mortelle,

Louis Martin était parvenu à conférer au cobaye une résistance accusée à la méningite tuberculeuse.

Les tentatives de vaccination générale qu'ils firent avec des émulsions bacillaires demeurèrent sans résultats et ils purent voir que leurs animaux étaient sensibilisés à des inoculations répétées de bacilles. C'est la *tuberculine* qui en était la cause ; donc la tuberculine était un *poison sensibilisateur* de l'organisme en général, mais non des séreuses, douées de moyens défensifs spéciaux et autonomes.

La bactériothérapie antituberculeuse, dit Vaudremer, doit être étudiée en fonction de cette propriété sensibilisante de la tuberculine. « Celle-ci doit être absente des corps bactériens employés dans un but thérapeutique », qui doivent, en outre, être dépourvus d'*acido-résistance*. On peut atteindre ce résultat soit en faisant perdre aux bacilles cette double propriété quand ils la possèdent, soit en les empêchant de l'acquérir.

Dans le premier cas on peut faire appel aux éléments protéolytiques et lipolytiques de certaines moisissures dont une des plus actives est l'*Aspergillus fumigatus*.

Dans le second cas, il faut utiliser les milieux de cultures pauvres de Vaudremer.

Harold Vanderlinden ayant eu l'occasion de travailler sous la direction de M. Vaudremer, à la consultation des affections tuberculeuses qu'il dirige à l'hospice de la Salpêtrière, nous apporte dans le bulletin médical des mercredi 12 et samedi 15 octobre 1927, les observations faites

sur les tuberculeux chirurgicaux traités par eux et les résultats satisfaisants obtenus.

Le traitement appliqué est le *Vaccin de Vaudremer*, préparé selon sa technique :

« Une culture de bacille de Koch virulent est soumise à l'action d'un filtrat de bouillon aspergillaire. Sous l'action des substances contenues dans ce milieu, le bacille de Koch subit des modifications profondes.

De tels bacilles repiqués sur gélose donnent au bout de quelques jours, des colonies recouvrant uniformément le milieu d'un enduit comparable à du bacille typhique.

La forme typique des bacilles à disparu et ils deviennent visibles sous formes des granulations de volume variable et à dispositions irrégulières. Souvent ils se groupent en chaînette. Ils ont perdu avec leur virulence leur pouvoir de former de la tuberculine et leur acido-résistance. Ce sont les émulsions de ces cultures qui, stérilisées à 58°-60° pendant une heure, constituent le *vaccin*.

Un mélange de 3 à 8 souches est généralement employé.

On pratique sous la peau du bras une série d'injections de ce vaccin « V. A. V. ». La dose initiale est de 1/4 cc. On augmente progressivement de 1/4 à chaque injection pour arriver à la dose de 1 ou 1 cc. 1/2, à laquelle on se maintient. On fait de cette manière une série de 12 à 20 injections à raison de deux par semaine.

Dans les cas bénins, une seule série d'injections suffit. Si les lésions sont plus avancées on peut être obligé de faire une seconde et même une troisième série.

Chacune de ces séries est suivie d'un mois de repos.

Quelques fois, au cours du traitement, on peut assister, vers la 5e ou la 6e injection, à une exaspération légère des symptômes ; les lésions se congestionnent et deviennent plus douloureuses. Il s'y passe, selon l'expression de VAUDREMER, un « phénomène de Koch à rebours ». Dans ce cas, il faut suspendre le traitement pour ne le reprendre que quand les phénomènes inflammatoires se sont arrêtés.

Les quelques observations qui suivent montrent les résultats obtenus. On y voit que, dès la 5e ou la 6e injection, quelquefois beaucoup plus rapidement, et parfois même dès la première, il se produit une régression notable des lésions.

OBSERVATION I

Mlle BA..., employée, se présente à la consultation, le 27 avril 1927, pour tumeur de la face dorsale du poignet gauche. L'affection a débuté en décembre 1926 par des douleurs spontanées et provoquées par les mouvements et la pression au niveau de la base de l'articulation radio-carpienne. Peu à peu il s'est formé une tuméfaction qui s'est développée jusqu'à atteindre son volume actuel. Les mouvements sont difficiles et douloureux.

Actuellement on voit une tuméfaction située à la face dorsale du poignet, mesurant 6 centimètres de hauteur et 4 centimètres de largeur, fortement tendue, rénitente et fixe en

profondeur. La peau, au-dessus de la tumeur, est amincie et violacée. A la radio, point de départ radial.

Décalcification marquée du radius et géode dans l'épiphyse inférieure ; état général fatigué.

Traitement commencé le 27 avril 1927 : ¼ cc.

4 mai 1927 : troisième piqûre ¾ cc. Diminution presque totale des douleurs. L'abcès a été ponctionné; pus très fluide.

11 mai 1927 : quatrième piqûre, 1 cc. L'abcès s'est ouvert spontanément dans l'intervalle et s'est vidé.

Gros ulcère au poignet de la grandeur d'une pièce de un franc, avec peau décollée sur toute la surface du poignet. Mouvements plus faciles et moins douloureux. Le traitement est continué à raison d'une injection de 1 cc. par semaine.

A la dixième, la peau est recollée ; il reste un petit ulcère gros comme un pois, avec tendance à se refermer. A la onzième injection l'ulcère est presque cicatrisé, ne suinte que très peu.

13 juillet : cicatrisation terminée ; mouvement normaux et indolores. Etat général amélioré. A repris deux kilogrammes en poids.

A la radio, le radius est en partie recalcifié ; la géode se referme.

OBSERVATION II

Mme Go..., 25 ans, blanchisseuse, se présente à la consultation, le 10 mai 1927, pour tumeur de la région cervicale droite. L'affection dure depuis un mois environ. A cette époque, la malade a commencé à ressentir quelques douleurs

sourdes à ce niveau et s'est aperçue de la présence d'un ganglion gros comme un haricot, douloureux à la pression et mobile. Six séances d'U. V. thérapie furent pratiquées qui n'arrêtèrent pas le développement. Quand la malade vient nous trouver, la tumeur atteint le volume d'une orange. Tumeur molle, douloureuse, fluctuante, peau amincie au-devant.

10 mai 1927, première injection : ¼ cc. Ponction ramenant 10 cc. de pus sanieux. On injecte dans la poche 1 cc. d'huile goménolée.

18 mai 1927, deuxième injection : ½ cc. Ponction : 5 cc. de pus. La douleur a diminué légèrement.

26 mai, troisième injection : ¾ cc. Ponction : pus un peu plus lié, légèrement hémorragique. La tumeur a notablement régressé.

Du 2 juin au 4 juillet, traitement continué à raison de 1 cc. par semaine. La tumeur s'affaisse et la peau se recolle. Sept ponctions sont effectuées au cours du traitement.

13 juillet, douzième injection. Guérison. Peau parfaitement recollée et souple, sans trace de collection sous-jacente.

OBSERVATION III

M. Gr..., 28 ans, étudiant, se présente à la consultation le 29 avril 1927. Porte sous l'oreille gauche une tumeur molle, fluctuante, du volume d'une noix. Peau tendue et très amincie. Assez douloureux. Au-dessous et un peu en avant, il existe une seconde tumeur adhérente à la peau, plus petite que la précédente, dure, non fluctuante. L'affection dure depuis qua-

tre mois. A subi pendant deux mois, sans résultat, l'action des rayons ultra-violets.

29 avril 1927, début du traitement : ¼ cc.

6 mai : ½ cc.

13 mai, réaction ganglionnaire assez forte. Arrêt du traitement.

8 juin, reprise du traitement : ½ cc.

10 juin, ponction, pus verdâtre, injection 1 cc. huile goménolée. Le malade n'a plus de douleur : ¾ cc.

Du 15 juin au 15 juillet, on effectue encore cinq ponctions et sept injections de vaccin (8 souches). Les douleurs disparaissent, la tumeur sous-maxillaire se résorbe. Le ganglion rétro-auriculaire diminue très fort.

15 juillet. injection 1 cc. Il n'y a plus de liquide, les parois de l'abcès se recollent.

20 juillet. Guérison. Il reste un petit module cutané, 12e injection 1 cc.

5 octobre. Revu le malade. Guérison maintenue.

OBSERVATION IV

M. Dan..., 22 ans, comptable. Adénite cervicale gauche. Se présente porteur d'adénite K, portant sur deux ganglions de la région sus-claviculaire, de la grosseur d'une petite prune chacun. Tumeurs molles et fluctuantes, indolores, évoluant depuis trois ans. La peau n'est pas amincie. Signes d'auscultation : néant. Pas d'antécédents de nature K., ni personnels, ni familiaux.

29 juin 1927, début du traitement : ¼ cc.

1er juillet : ½ cc. Diminution des tumeurs.

5 juillet : 1 cc. Ponction des deux ganglions.

13 juillet : 1 cc.

20 juillet : 1 cc. (cinquième injection). Guérison. Tumeurs disparues, perceptibles seulement à la palpation sous forme de petits noyaux légèrement adhérents en profondeur et du volume d'un pois. Le traitement est continué quelque temps encore.

OBSERVATION V

Mlle Ja..., 22 ans, dactylo. Adénite cervicale droite. Tumeur constituée par un bloc gros comme une orange, divisé en deux par un sillon, adhérent aux plans sous-jacents et recouverte par un tégument fortement tendu et rouge. Légèrement ramollie au centre. Il existe également des lésions discrètes d'adénite du côté gauche.

15 juin 1927, début du traitement : ¼ cc.

22 juin : ½ cc.

29 juin : ¾ cc. Tumeur réduite au volume d'une noix.

6 juillet : 1 cc. Ponction 5 cc. de pus très liquide. Injection de 1 cc. d'huile goménolée dans la poche.

13 juillet : 1 cc. Forte diminution, volume d'une noisette. Il y a une petite collection qu'on ne ponctionne pas.

20 juillet : 1 cc. Guérison. Persistance d'un petit noyau cutané mobile.

CONCLUSIONS

REVUE GENERALE

I

Le bacille tuberculeux ne se présente pas toujours sous la forme et sous l'aspect classique que nous connaissons depuis la découverte de Koch.

Coloré par la méthode de Ziehl, il résiste à l'action des acides dilués et de l'alcool, et se montre dans les préparations, sous la forme d'un bâtonnet rouge, or, il est possible de contrôler sa présence, dans les cultures pures, à coté d'éléments acido-alcoolo-résistants, de formes colorées en bleu, par la méthode de Ziehl, éléments cyanophiles de Bezançon et Philibert.

II

Il est possible, grâce à différents procédés culturaux, de faire perdre au bacille tuberculeux son acido-alcoolo-résistance. Vaudremer y est parvenu en particulier, en cultivant le bacille de Koch, dans des milieux privés de

glycérine, tels que : l'eau de pomme de terre, le bouillon au pois Lupin, le bouillon ordinaire.

III

Le bacille tuberculeux, pour certains auteurs, possède dans les cultures des éléments assez petits pour traverser les filtres de porcelaine, tels que les bougies Chamberland L3.

IV

Vaudremer a montré que les filtrats âgés, inoculés aux liférer et donner naissance, dans les cultures de filtrats, à des éléments granuleux, filamenteux, ayant parfois un aspect mycélien, tous non acido-résistants. — Bezançon-Hauduroy ont observé dans les filtrats des aspects filamenteux qui leur ont semblé de même nature que ceux observés par Vaudremer, mais ils n'ont pu obtenir aucune lésion expérimentale certaine avec ces filtrats.

V

Vaudremer a montré que les filtrats âgés, inoculés aux animaux sous la peau, déterminent une tuberculose larvée, à type ganglionnaire, accompagnés parfois de syndromes de Poncet.

Dans certains cas, les filtrats jeunes, inoculés par la voie sanguine, déterminent, non pas des tuberculoses du

type classsique, mais des maladies rapides, avec mort assez brusque, comme de véritables toxémies.

VI

Ces formes filtrantes du bacille tuberculeux existeraient aussi dans les produits pathologiques.

Fontès, Calmette, Valtis, Dufourt, Malartre, et d'autres auteurs, les ont décrites dans les crachats, dans le pus, dans le liquide céphalo-rachidien, dans des ganglions trachéo-bronchiques, provenant de tuberculeux.

VII

Ces formes filtrantes, qui sont invisibles dans les filtrats, donneraient naissance dans l'organisme des animaux inoculés, à des bacilles acido-alcoolo-résistants.

VIII

Les animaux inoculés avec ces filtrats de produits pathologiques, meurent tardivement, leur autopsie permet, seule, de déceler des lésions minimes et, le nombre de bacilles qu'on découvre, est infiniment petit.

IX

Expérimentalement, on aurait trouvé de rares bacilles chez les petits de cobaye femelles inoculées avec des filtrats de produits tuberculeux.

Ce serait la preuve d'une « hérédité de grains » possible.

X

Calmette, Couvelaire, Arloing, auraient trouvé chez certains fœtus ou enfants mort-nés, venant de mère tuberculeuse, des bacilles de Koch.

L'hérédité de la tuberculose existerait, mais il faut dire que les observations sont rares, et qu'en tout cas, elles ne doivent en rien changer nos méthodes de prophylaxie de la maladie.

Ces résultats ne sont pas admis sans conteste. Les expériences de Philibert, de Esken et de Fessler sont en opposition avec eux.

XII

Vaudremer a pensé qu'il était possible de traiter certaines formes de tuberculose avec un vaccin contenant des bacilles tuberculeux, non acido-alcoolo-résistants.

Les résultats qu'il a obtenus sont très favorables et nous rapportons des observations de malades traités par cette méthode.

BIBLIOGRAPHIE

Arloing et Dufourt. — Soc. Méd. Hôp. Lyon, 19 mai 1925.

— Rev. de la Tuber., t. VI, n° 4, p. 517.

— C. R. Ac. des Sciences, t. CLXXXI, p. 826. Séance du 9 novembre 1925.

— Bull. Ac. Méd., t. XCV, n° 7, p. 163, 16 février 1926.

— Bull. Ac. Méd., t. XCVI, p. 301, 30 novembre 1926.

— C. R. de Soc. Bio., t. XCV, p. 1414, 4 décembre 1926.

— Presse Méd., 5 janvier 1927, n° 2, p. 17.

— Paris Méd. n° 1, 2 janvier 1926, p. 22.

Arloing, Dufourt, Malartre. — C. R. Soc. Biol., t. XCIV, p. 46, 21 décembre 1925.

Arloing. — Congr. internat. hyg. de Berlin, in. Rev. tub. t. V, n° 1, février 1908.

Arloing et Dufourt. — Soci. Biol., 15 juin 1925, p. 165:

— C. R. Soc. Biol., 15 novembre 1926.

— C. R. Soc. Biol., 20 décembre 1926.

Arloing, Thevenot, Dufourt, Malartre. — Bull. Acad. Méd., 11 octobre 1927.

Bernard (L.). — Paris Méd., 7 janvier 1922, p. 21.

— Ann. de Méd., mai 1923, n° 5, p. 391.

Bezançon. — La Médecine, 4e année, n° 8, mai 1923, p. 565.

— *Sect. et Scient. sur la tub.*, 12 janvier 1924.

— La Médecine, 7e année, n° 9-10, juin 1926, p. 1.

Bezançon, Philibert. — Bull. Soc. et Scient. sur la tub., 12 mars 1914, n° 2.

— Presse Méd., 9 janv. 1926, n° 3, 22.

Bezançon, Philibert, Hauduroy. — C. R. de la Soc. Bio. t. XC, p. 475, 23 février 1924.

Bocquel, Nègre, Valtis. — C. R. de la Soc. Biol., t. XCIV, p. 235, 30 janvier 1926.

Bezançon, Philibert. — *Le bacille de la tuberculose*, texte de bactériologie de Masson-Laurier (sous presse).

Bezançon, Hauduroy. — *Sect. d'étud. Scien. de l'œuvre de la tuber.*, 12 janvier 1924.

— Revue de la tuber., 1924, n° 2, t. V, p. 215.

De Bonis, Tornate. — Accademiche della scuola libera. Med. chir. Napoletana. Séance du 17 février 1926 et Riforma Medica, 1926 n° 10.

Van Benedin (J.). — Bruxelles Medical, 18 septembre 1927, n° 47, p. 1493.

Bocchini. — Rinescenza Medica, octobre 1927, t. IV, n° 19.

Bruno, Lange, Zeitsh, F. Cuberk. — 1926, t. XLVI, n° 6, p. 455.

Couvelaire. — Soc. Obs. et Gyn., 9 novembre 1923.
— Bull. Aca. Méd. t. XCV, n° 9, p. 195, 2 mars 1926.
— Bull. Aca. Méd. t. XCVI, p. 272, 23 novembre 1926.
— Presse Médicale, 19 février 1927, n° 15, p. 225.
— Gyn. et Obst., t. XIII n° 6. p. 347, 1926.

Chamberland. — C. R. Ac. des Sc., t. IC, 247.

Carlo Verdina. — Giornale della R. Accedemia di Medicina de Torino, t. LXXXVIII, p. 348, 1924 et Giornale di batteriologia e immunologia, n° 4, avril 1926, t. XCIV.

Gluzet, Chevallier et Kausman. — Soc. de Biol. (réunion Lyonnaise), 21 décembre 1926.

Calmette (A.), Valtis (J.), Nègre (L.) et Boquet (A.). — C. R. Acad. des Sc., séance du 15 novemb. 1926.

Calmette. — *Infection bacillaire de la tuberculose.*

Calmette et Breton. — Ann. de l'Institut Pasteur, 21 novembre 1923.

Calmette. — Rapport, C. R. IVe Conf. inter. contre la tub., Lausanne, 5 août 1924, in Rev. Tub. 1924, t. V, p. 716.

Calmette. Valtis. — Ann. Méd., t. XIX, n° 6, p. 553, juin 1926.

CALMETTE, VALTIS LACOMME. — C. R. Acad. des Sc., t. CLXXXIII, p. 835, 15 novembre 1926.

— Presse Mtd., 10 nov. 1926, p. 1409.

DURAND et VAUDREMER. — S. de Biol., 5 avril 1924, t. XC, p. 916.

DURAND. — S. de Biol., 11, 31 mai 1924, t. XC, p. 11.

DUCLAUX (J.). — *Les Colloïdes*, Cauthier-Villars, édit., 1920.

DURAND et CHARCHANSKI. — Soc. de Biol., 18 juillet 1926, t. XCIII, p. 499.

DURAND. — Académie de Médecine, 19 janvier 1926, p. 75.

DURAND et VAUDREMER. — C. R. Soc. de Biol., t. XC, p. 916, 5 avril 1924.

DESSY. — Bull. dell. Ist., Sieroterapico Milanesi, 1926, n° 1.

DEBRÉ (R.), LELONG et BONNET (H.). — Soc. de Biol., 4 décembre 1926, t. XCV, p. 1425.

DUFOURT. — Journal de Méd. Lyon, n° 147, p. 105, 20 févr. 1926.

ESKOV. — Soc. Bresil, Biol. Séance 14 décembre 1926.

FONTÈS. — Mémoire de l'Institut Oswaldo-Cruz, avril 1910, t. II, n° 1 C. R. Soc. Biol., 9 juin 1923, t. LXXXIX, p. 80.

FIGERIDO-BURLU. — in C. R. de Soc. Biol., t. XCVI, 1927, p. 499.

— Bull. l'Institut Pasteur, t. XXV, 15 mai 1927, p. 397, n° 9.

Gauthier (A.). — C. R. Ac. des Sc., t. XCIV, 652.

Gessar et Vaudremer. — C.R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, p. 1012.

Hauduroy. — C.R.S. Biol., t. XCI, p. 1208, 20 novembre 1924.

— Presse Médicale, 20 février 1926, n° 15, p. 227.

Hauderoy et Vaudremer. — C. R. de Soc. de Biol., 22 décembre 1923, p. 1276.

Hugounenk. — Ann. de chimie et de physique, t. XXVIII, 1893.

Holderer. — Thèse de Doctorat ès Sciences, Paris, 1905.

Hauduroy et Vaudremer. — C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 22 décembre 1923.

Hauduroy. — Mémoire d'agrégation, 1926. Extrait du journal de physiologie et de pathologie générale, t. XXV, n° 3, 1927.

Koch. — Soc. Physiologique de Berlin mars 1882.

Kuss. — *Hérédité parasitaire de la tuberculose expérimentale.* Journal médical français, t. XI, n° 9, septembre 1922.

Klein. — *Zur Geschichte des Pleomerphimus des tuberculose Erregers.* Centralle f. Bact. Bd. 12, p. 905, 1892.

Lorenyo Bosco. — Giornale di batteriologia e immunolgia, Juin 1927, n° 6, p. 365.

LEVINTHAL. — Zeitsch, f. Hyg., t. CVII, p. 387.

LUMIÈRE (A.), VIGNE (P.) et CHEVROTIER (J.). — L'Avenir Médical, juillet-août 1927, année 7.

LANDOUZI. — Congrès de Washington, 1908.

LELONG. — Thèse de Paris, 1925.

METCHNIKOFF. — Virebow's Archiv., 1888, p. CXIII, p. 63.

MARTIN (Louis) et VAUDREMER. — *Etud. sur la pathogénie de la ménin. tub.* C. R. Soc. Biol., 19 nov. 1898.

MALFITANO. — C. R. Ac. des Sc., t. CIL, 1904, 920.

MUCH. — *Die nach. Ziehl nicht darstellbaren Formen des Tuberkel-Bacillus.* Berl., Klin. Woch., 6 avril 1928, R. 691.

MONTEMARTINI. — Bull. dell. Ist. Sieroterapico Milanesi, 1925, n° 1.

MAC JUNKIN. — Journ. of. exp. med., 1921. t. XXXIII, p. 751.

MALARTRE (J.). — Thèse de Lyon, 1927.

NADAULT DE BUFFON. — C. R. Ac. des Sc., 44, 474.

NELIS. — Soc. Biol., 8 janvier 1927, t. XCVI, p. 21.

NASTA. — Soc. Biol., 5 mars 1927, t. XCVI, p. 591.

NOCARD et ROUX. — *Sur la culture du B. de la tuber.* Ann. de l'Inst. Pasteur, 1888, p. 24.

PASTEUR et JOUBERT. — C. R. Ac. des Sc., t. XXXIV, 900, et t. LXXXV, 101.

PHILIBERT. — *Recherches sur la virulence du pus tuber-*

culeux avant et après filtration. Bull. de la soc. d'études scientifiques sur la tuberculose, n° 1, décembre 1912.

DE POTTER (E.). — Soc. Belge de Biol., 4 décembre 1926, in. C. R. Soc. Biol., t. XCVI, p. 138.

PÉTRAGNANI. — Bull. dell. Ist. Sieroterapico Milanesi, 1926, n° 4.

PARAF (J.). — Soc. de Biol., 20 mars 1925, t. XCII, p. 792.

PHILIBERT. — Extrait du Bull. de la Soc. d'étude scient. tub. N° séance de décembre 1912.

— Manuel de Bactériol. Méd. 1928.

PETRAGNANI. — *Alla ricerca della forma filtrante del virus tubercolari* Bull. delle instit. Sierot. Milanesi, fasc. IV, août 1926, p. 196.

PLANCHU et GARDÈRE. — Province Médicale 1907, n° 43. p. 450.

RABINOWITSCH KEMPNER (Lydia). Deutsche med., Woch. 1927, n° 49.

RATHELOT. — Gazette des Hôpitaux, 15 mai 1926, n° 39, p. 629.

RIBADEAU-DUMAS. — Le Nourisson, mai 1924, n° 3, p. 175.

SANARELLI. — Central für Bakt., t. IX, 1891.

STRAUSS. — *La tuberculose et son bacille*, 1895.

SERGENT, DURAND. — Bull. Acad. Méd. C. XCVI, p. 392, 7 décembre 1926.

SERGENT. — Acad. Méd., 16 février 1926.

TITU VASILIU et IRIMINOIU (Ch.). — Soc. de Biol. Roumaine, 27 mars 1926.

Mlle TOYOUNOFF. — Soc. Biol. 2 juillet 1927 et août 1927, t. XCVII, p. 628.

VILLEMIN. — Bull. de l'Académie de Médecine, 1865.

VAUDREMER. — Soc. Biol. 1912, p. 501.
— Soc. Biol. juin 1923.

VAUDREMER. — Revue de la tuber. 1924, n° 2, p. 221.

VANNUCCI. — 1924, p. 69 et Rev. crit. di clin. med., t. XXIV, n° 33, novembre 1923.

VALTIS, BOQUET, NÈGRE. — Soc. Biol. 30 janvier 1926, t. XCIV, p. 235.

VAUDREMER. — Presse Médicale, octobre 1924.
— Paris Médical, janvier 1924, n° 1, p. 30.

VALTIS. — Soc. de Biol. 18 janvier 1924, t. XC, p. 19.
— Revue de la tuber., 1924, t. V, p. 218.
— Soc. de Biol., 23 janv. 1924, t. XC, p. 74.
— Soc. de Biol., 3 mai 1924, t. XC, p. 1130.
— Ann. de l'Institut Pasteur, juin 1924.
— Paris Médical, janvier 1926, p. 75.

VANNUCCI. — *Le Spérimental*, t. LXXVIII, fasc. 3, 1924.

VEBER (T.). — Soc. de Biol., 9 janvier 1926, t. XCIV, p. 3.

VAUDREMER. — *Le bacille de la tuberculose*, Paris Médical, 5 janvier 1924.
— C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 9 juin 1923.

VALTIS. — C. R. Soc. de Biol., t. XC, 3 mai 1924.

VALTIS (J.), NÈGRE (L.), BOQUET (A.) et Mlle CERTONCINY. — Soc. de Biol., 17 décembre 1927.

VALTIS. — Presse Médicale, 28 janvier 1928, n° 8.

VANDERLINDEN (H.). — Bulletin Médical 12-15 octobre 1927, 41e année, n° 12.

VALTIS. — Soc. Biol. et Sect. d'ét. sc. de l'œuvre de la Tuber., 12 janv. 1924, Ann. l'Inst. Pasteur, juin 1924.

ZAHN. — Pflüger's Archiv., 2, 598.

TABLE DES MATIÈRES

HISTORIQUE 5
La découverte de Fontès 11
LA TECHNIQUE D'ETUDES 15
Les expériences faites en vue de mettre en évidence les éléments filtrants 23
Travaux de Vaudremer et Hauduroy 25
Pouvoir pathogène des formes filtrantes dans les cultures 29
Eléments filtrants dans les produits pathologiques 32
Problème de l'hérédité tuberculeuse. Conséquence de la découverte des éléments filtrants.... 42
Peut-on admettre pour un enfant de naître tuberculeux 51
Les notions classiques et les faits nouveaux.... 55
LES CONTROVERSES 57
TRAITEMENT PAR LE VACCIN VAUDREMER 65
OBSERVATIONS 68
CONCLUSIONS 73
BIBLIOGRAPHIE 73